

**Mágneses folyadékok előállítása és stabilizálása  
fiziológias körülmények között orvos-biológiai  
felhasználás céljából**

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**Hajdú Angéla**

Témavezető: Dr. Tombácz Etelka  
egyetemi tanár, MTA doktora

Kémia Doktori Iskola  
Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszékén  
SZTE TTIK

**2010.**

**Szeged**

## Tartalomjegyzék

1. Bevezetés, célkitűzés .....	4
2. Irodalmi áttekintés .....	6
2.1. Mágneses folyadékok .....	6
2.2. Mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználásai .....	8
2.2.1. Mágneses magrezonancia képalkotás (MRI).....	8
2.2.2. Mágneses hipertermia.....	12
2.3. Magnetit.....	14
2.4. Szilárd folyadék határfelület, adszorpció .....	15
2.5. Kolloid stabilitás.....	19
2.6. Koagulálás kinetika .....	22
3. Kísérleti anyagok és módszerek .....	24
3.1. Kísérleti anyagok.....	24
3.1.1. Magnetit előállítása.....	24
3.2. Kísérleti módszerek .....	25
3.2.1. Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) és röntgen diffrakciós analízis (XRD).....	25
3.2.2. Mössbauer spektroszkópia.....	26
3.2.3. Vibrációs magnetometria (VSM) .....	27
3.2.4. Adszorpciós izoterma meghatározása .....	28
3.2.5. UV-VIS spektrofotometria .....	28
3.2.6. Atomspektroszkópia.....	30
3.2.7. Gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR) .....	30
3.2.8. Az elektrokinetikai potenciál és meghatározása.....	31
3.2.9. Dinamikus fényszórás mérés (DLS).....	32
3.2.10. HeLa sejtes kísérletek.....	33
3.2.11. Mágneses rezonancia képalkotás (MRI) és proton-magmágneses rezonancia ( $H^1$ -NMR).....	34
3.2.12. Mágneses hipertermia.....	38
4. Kísérleti eredmények és értékelésük .....	40
4.1. Magnetit nanorészecskék jellemzése.....	40

4.1.1. A magnetit nanorészecskék jellemzése (XRD, TEM, DLS (részecskeméret, elektroforetikus mobilitás), ATR-FTIR) .....	40
4.1.2. A magnetit nanorészecskék mágneses jellemzése (VSM, Mössbauer spektroszkópia).....	44
4.2. Stabilizáló ágensek adszorpciója magnetit felületén .....	45
4.2.1. A citrát adszorpció hatása.....	45
4.2.2. A poliakrilát adszorpció hatása.....	50
4.2.3. A Nátrium-oleát adszorpció hatása .....	53
4.3. A stabilizáló anyagok hatása a részecskék töltésállapotára és méretére .....	56
4.3.1. A stabilizátorok koncentrációjának hatása a magnetit töltésállapotára .....	57
4.3.2. A stabilizált magnetit részecskék pH-függő töltésállapota és aggregációja.....	58
4.4. Mágneses folyadékok sótűrése .....	61
4.5. A mágneses folyadékok kölcsönhatása élő (HeLa) sejtekkel.....	66
4.6. A mágneses folyadékok kontrasztképző hatása és térerősség függése (MRI, $H^1$ -NMR).....	69
4.6.1. A mágneses nanorészecskéket stabilizáló molekulák szerepe a mágneses folyadék kontrasztképző hatásában .....	70
4.6.2. A mágneses folyadékok térerősség függő kontrasztképző hatása .....	77
4.7. A mágneses folyadékok hipertermiás hatása.....	82
5. Összefoglalás .....	89
6. Summary.....	93
Irodalomjegyzék .....	97
I. Függelék .....	109
II. Függelék.....	113
Köszönetnyilvánítás .....	118

## 1. Bevezetés, célkitűzés

Napjainkban egyre jobban növekszik az érdeklődés a mágneses folyadékok (MF) iránt a kutatások számos területén különleges tulajdonságaik miatt [*Pankhurst et al., 2003; Sahoo et al., 2005; Scherer & Figueiredo Neto, 2005*]. Mágneses folyadéknak nevezzük azokat a folyadékokat, melyekben szuperparamágneses részecskék vannak diszpergálva. Ezek a folyadékok külső mágneses térrel manipulálhatók, inhomogén térben a részecskék együtt mozognak a közeggel, szeparálódás pl. szedimentáció gravitációs térben nem történik [*Zrínyi, 1999; Butter, 2003*]. A mágneses részecskék, gyakran vas-oxidok, mérete kicsi, néhány tíz nanométertől ( $1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$ ) néhány mikrométerig ( $1\text{ }\mu\text{m} = 10^{-6}\text{ m}$ ) terjed. A leggyakrabban alkalmazott vas-oxid a magnetit illetve a maghemit, mely a természetben is előfordul makroszkópos ásványi formában [*Cornell & Schwertmann, 1996*].

A szerves közegű MF-ok igen kiterjedt technikai alkalmazásai (pl. tömítés, hangszóró membrán felfüggesztés) mellett, a vizes közegű mágneses folyadékokat elsősorban az orvostudományok területén tervezik használni. A diszpergált nanorészecskéknek ehhez szigorú feltételeknek kell megfelelnie, egyik legfontosabb ilyen szempont a toxicitás, azaz, hogy nem lehetnek mérgezőek. Az alkalmazásuk előfeltétele az egyedi részecskék összetapadásának megelőzése a mágneses folyadék kémiai és kolloid stabilitásának megőrzése illetve fokozása [*Fauconnier et al., 1999; Gonzalez et al., 2002; Şincai et al., 2002; Park et al., 2009*]. Ezt a nanorészecskék borításával, felületmódosításával érik el [*Pankhurst et al., 2003; Saiyed et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; Gupta & Gupta, 2005*]. A különböző burkoló molekulák segítségével széles körben felhasználhatóvá válnak a mágneses nanorészecskék mind a diagnosztika, mind a terápia területén [*Saiyed et al., 2003; Goodarzi et al., 2004; Leslie-Pelecky et al., 2006; Bica et al., 2007; Hajdú et al., 2008*].

Az életfolyamatok vizes közegben, megfelelő pH-n (a vér pH-ja  $\sim 7,4$ ) és elektrolit összetételnél, azaz fiziológiás körülmények között mennek végbe. Egy vizes mágneses folyadék kolloid stabilitása függ többek között a töltéshordozó részecskék közötti elektrosztatikai taszítástól, az elektrolitkoncentrációtól, a pH-tól, a jelenlévő specifikus ionok adszorpciójától és a mágneses vonzó kölcsönhatásoktól [*Hunter, 1987; Odenbach, 2003; Tombácz, 2003*]. A mágneses folyadékokban diszpergált részecskék külső mágneses térrel való kölcsönhatása számos orvos-biológiai alkalmazást tesz lehetővé: hatóanyag szállítás, hipertermiás kezelés, MRI (magnetic resonance imaging - mágneses



magrezonancia képalkotás) kontraszthatás, vagy mágneses sejt szeparáció [*Fauconnier et al., 1999; Pankhurst et al., 2003; Gupta & Gupta, 2005; Jain et al., 2008; Munnier et al., 2008*]. A nanorészecskék méretét változtatva hangolhatjuk például a sejt belsejében való passzív felhalmozódásukat, mivel képesek átlépni a sejtmembránon [*Pankhurst et al., 2003; Berry & Curtis, 2003; Muthana et al., 2008; Gamarra et al., 2008; Hadaad et al., 2008*].

Disszertációm fő célja az volt, hogy olyan mágneses folyadékokat állítsak elő, melyek különböző molekulákkal borított magnetit nanorészecskéket tartalmaznak, stabilitásukat hosszú időn át megőrzik és a fiziológiás körülmények mellett sem aggregálódnak.

Munkám folyamán kerestem a választ az oxigén jelenlétében végbemenő változásokra a magnetit nanorészecskék szintézise során. Terveztem a magnetit maghemit átalakulás lehetőségének vizsgálatát, illetve jelentőségét a nanorészecskék mágneses tulajdonságaiban bekövetkező változásokra és a későbbi felhasználásra gyakorolt hatására.

A mágneses részecskék felületét módosítottam 3 különböző, de egységesen karboxil csoportot tartalmazó stabilizátorral, az ismert komplexképző citromsavval (CA), a makromolekulás poliakrilsavval (PAA), és a felületaktív, amfifil molekulájú Na-oleáttal (NaOA). Így vizsgálhattam a magnetit részecskék felületi helyeivel ( $\equiv\text{FeOH}$ ) elsődlegesen hasonló kémia kölcsönhatásba lépő karboxil vegyületek adszorpciója által létrejött elektrosztatikus, szterikus, illetve a kombinált elektrosztérikus stabilizálások közti különbséget.

Célul tűztem ki a stabilizált mágneses folyadékok előállítását, a magnetiten megkötődő felületmódosítók adszorpciójának (CA, PAA, NaOA) vizsgálatát, a felületi töltésállapot változásának nyomon követését, és egy korrekt metodika kidolgozását, mellyel egyértelműen megjósolható a mágneses nanorészecskék aggregációja fiziológiás körülmények között.

Az előállított mágneses folyadékok biokompatibilitásának bizonyítása céljából humán adenokarcinoma (HeLa) sejtvonalon terveztem kísérleteket végezni, a citotoxikus és antiproliferatív hatásának meghatározására.

A diagnosztikában jelentős szerepet betöltő MRI készülék (1,5 T) alkalmazásával terveztem vizsgálni a különféle hidrofilitású mágneses nanorészecskéknek a protonok relaxációs sebességére gyakorolt hatását, összehasonlítva a jelenleg alkalmazott kontraszt anyagokkal, a Gd tartalmú keláttal és a vas-oxid alapú Resovist-tal. Emellett ugyanezen

minták térerősség függő kontrasztképző hatását is terveztem vizsgálni  $H^1$ -NMR (mágneses magrezonancia spektroszkópia) készülékeken (0,47 és 9,4 T).

Végül célom volt a nanorészecskék hőtermelését mérni váltakozó mágneses térben egy házilag összeállított hipertermiás készülékkel.

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1. Mágneses folyadékok

A mágneses folyadékokról a legelső irodalomban fellelhető forrás McKeehan egy 1940-es cikkében található, melyben arról tesz említést, hogy egy bizonyos W. R. Grove már 1845-ben Londonban magnetit részecskéket szuszpendáltatott vizes közegben és vizsgálta a mágneses tér hatását a fényáteresztő képességére [[McKeehan, 1940](#)]. A cikk alapján feltételezhető, hogy ekkor még mikrométer nagyságú vas-oxid részecskéket vizsgáltak, azonban már 165 évvel ezelőtt is foglalkoztak a jelenséggel.

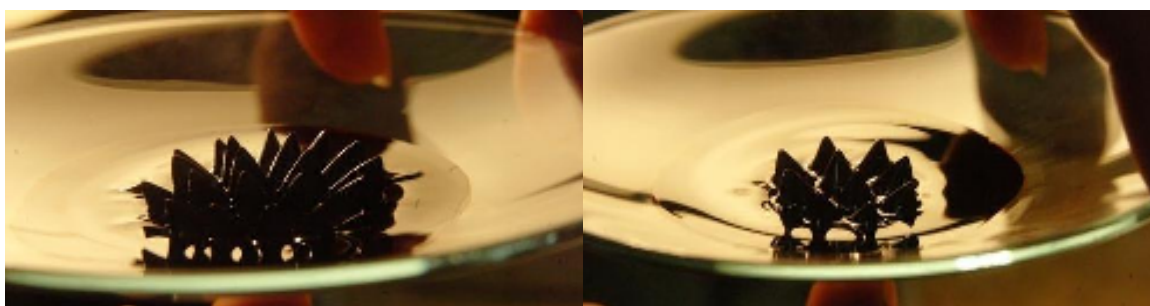
A mágneses folyadékok intenzív kutatása azonban több mint 100 évvel később az 1960-as években indult meg. Ekkor kezdődtek meg a NASA kutatási központjában olyan kísérletek, melyek során a súlytalanság állapotában kontrollálható folyadékokat kutattak [[Tatarunis & Klasco, 2005](#)]. Szerves közegű mágneses folyadékot fejlesztettek ki, mely mágneses nanorészecskéket, mint például a 10 nm körüli magnetit ( $Fe_3O_4$ ) részecskéket tartalmazott kolloid szuszpenzió formájában. Külső mágneses térre elmozdult a folyadék, így valószínűsítették a folyadék alkalmazását az űrtechnológiában, kihasználva a mágneses térrel való irányíthatóságát (2.1.1. ábra). A mágneses nanorészecskék felülete módosítható felületaktív anyagokkal, így a diszpergálhatóságuk befolyásolható és igény szerint alakítható.

Mára már elterjedt alkalmazásuk a mindennapi használati tárgyaink körében is, mint pl. a HiFi hangszórók membránjának felfüggesztése MF-n keresztül, a számítógépek merevlemezének tengely tömítése MF-kal, lengéscsillapítóként Cadillac típusú autókba [[NASA hivatalos honlapja](#)]. Ezekben az adott célra megfelelő, például nagy viszkozitású szerves folyadékokban történik a mágneses nanorészecskék eloszlata [[Zahn, 2001](#)].

A mágneses folyadékok alkalmazását orvos-biológiai célokra széles körben tervezik, illetve egyes területeken már alkalmazzák is (pl. a Resovist kontrasztanyag az MRI vizsgálatoknál). Felhasználásuk mind a diagnosztikában, mind terápiás célokra előnyösnek tűnik. Megemlíthető például a mágneses sejt-szeparáció, a hipertermiás kezelés

vagy a célzott hatóanyag bejuttatás, ahol a rákos sejtek „falánkságát” használják ki, valamint azt, hogy a mágneses hordozóhoz kötött hatóanyag külső mágnessel lokalizálható.

A mágneses folyadékok mágneses részecskék folyadék fázisú közegben történő szuszpendálása által keletkeznek. A közeg lehet szerves és vizes fázisú is, azonban az élő szervezetben való alkalmazhatóság megköveteli a vizes fázist, ahol a részecskéknek az uralkodó pH (pl.: a vér pH-ja  $\sim 7,4$ ), illetve elektrolit mennyisége mellett kell stabil, aggregációtól mentes állapotban maradniuk.



**2.1.1. ábra Mágneses folyadék külső mágneses térrel irányítva.**

A mágneses részecskék mérete néhány nanométertől néhány száz nanométerig változhat, ez teszi őket alkalmassá biológiai rendszerekben való felhasználásban [Bee *et al.*, 1995; Blanco-Mantecona & O’Grady, 2006]. Eléri azt a mérettartományt, mely szükséges a sejtekbe történő bejutáshoz és a stabilizálással pedig megakadályozható az aggregációjuk, ezzel elkerülve az esetleges trombus vagy embólus kialakulás veszélyét, mivel a mágneses nanorészecskék bejuttatását a legtöbb esetben az érpályán keresztül tervezik [Pankhurst *et al.*, 2003; Tombácz *et al.*, 2007; Tombácz *et al.*, 2008; Hajdú *et al.*, 2008].

A szervezetbe juttatott nanorészecskék keringési ideje méretükkel ugyan befolyásolható, de fél-életidejük a vérben nagyon rövid. Kiválasztódásuk a májban és a lépben való felhalmozódásuk révén történik (RES sejtek, Kupffer sejtek), további sorsuk nem teljesen tisztázott. Lizoszómákban felhalmozódnak, ahol feltehetőleg a savas pH ( $\text{pH}=1-2$ ) hatására bekövetkező oldódást követően a mágneses folyadék vastartalma a normál vas anyagcsere folyamatba kapcsolódik be, kiürül illetve vörösvértestek szintéziséhez használandik el [Brigger *et al.*, 2002; Lacava *et al.*, 2004; Hong *et al.*, 2008; Wilhelm & Gazeau, 2008]. A szervezetben megnövekedett vas mennyisége azonban nem okoz zavart az anyagcserében, így számos előnyük mellett felhasználásuk biztonságos is [Lübbe *et al.*, 2001].

A nanorészecskék beburkolhatók biomolekulákkal, így nyomon követhetőek. Ez számos biológiai alkalmazást tesz lehetővé: transzport, immobilizált mágneses részecskék, mágnesesen nyomon követhető biológiai rendszerek, melyek ez által a célzott hatóanyag bejuttatásra is alkalmassá válnak. Ezen módszer alkalmazásával a mágneses részecskéhez kapcsolják a hatóanyagot / gyógyszer molekulát egy effektoron keresztül. A burkolt nanorészecskék ionosan és reverzibilisen kötik a gyógyszer molekulákat, így mikor a kívánt helyre érnek, a hatóanyag molekulák könnyen felszabadulnak [*Alexiou et al., 2001; 2005*]. A funkcionálizálás hatására képesek a nanorészecskék közvetlen kovalens kölcsönhatásba lépni, illetve kötni a biológiai molekulákat.

A nanorészecskék mérete és felületmódosításának köszönhető előnyök mellett néhány probléma is felmerül a mágneses folyadékok alkalmazása során, mely még megoldásra vár. Az egyik a már fentebb említett embolizáció lehetősége a mágneses részecskék akkumulációja miatt, mely mindegyik tervezett felhasználási terület esetén fellépő probléma. Emellett nehéz következtetéseket levonni a kísérleti állatokkal végzett kutatások alapján az emberi szervezetben való alkalmazhatóságról a célterület és a mágnes között lévő nagyobb távolságok miatt. Az eddigi kísérletekben a mágneses folyadékokra nem tudtak kimutatni LD50 értéket (LD50 az a dózis, melytől a kísérleti állat populáció fele meghal), nincs klinikai intolerancia vagy működési zavar a hatóanyagot kötő mágneses folyadék alkalmazása során [*Lübbe et al., 2001; Saiyed et al., 2003*].

## **2.2. Mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználásai**

### **2.2.1. Mágneses magrezonancia képalkotás (MRI)**

Az MRI egy olyan képalkotó diagnosztikai módszer, mely a lágy részek/szövetek szerkezetének leképezésére képes. Az MRI elméletét és mérés technikáját a 1970-es évek derekán dolgozták ki. E kutatások vezéralakjai, Mansfield és Lauterbur 2003-ban orvosi Nobel-díjban részesültek. Ez egy tomográfiás eljárás, mellyel szeletkép-sorozat készíthető [*Babos, 2006*]. A készülék fő része a mágnes, melynek közepén helyezkedik el a páciens (2.2.1.1. ábra). A mágnes lényegében egy elektromágneses tekercs, melyet folyékony héliummal hűtenek. A különböző feltételekben szintén tekercsek találhatók, melyek a protonok reszinkronizációját, mozgási melléktermékeket csökkentik, stb. végzik. Az MRI kép előállításához ezekre a tekercsekre a gradiens tér létrehozása miatt van szükség. Ezen terek lokalizációja segítségével alkotható egy 3D-s felvétel, illetve a terek erőssége

nagymértékben befolyásolja a feloldóképességet (általában a legkisebb vizsgálható térfogat  $1\text{ cm}^3$  szokott lenni.) [*Martos & Zaránd, 2000*].



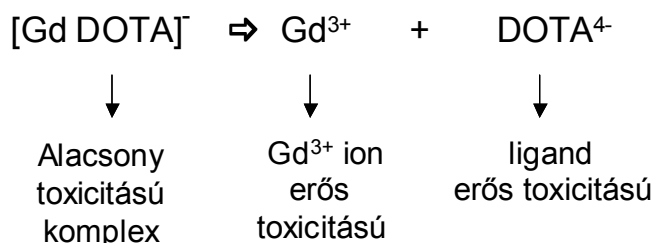
**2.2.1.1. ábra MRI készülék (1,5 T), Euromedic Diagnostics Szeged KFT.**

A mérés alapja, hogy a mágneses atommagok kölcsönhatnak a rájuk ható mágneses térrel [*Hore, 2004*]. Elsősorban minőségi információkat kapunk a vizsgálat során. Azok az atommagok mágnesesek, melyek magspinje zérustól eltér. Az MRI a  $H^1$ -NMR orvosi diagnosztikában alkalmazott képalkotó módszere, a szöveteket felépítő sejtek protonjai adják a jelet [*Sohár, 2002*]. Egy állandó mágneses tér jelenlétében egy elektromágneses impulzust alkalmazva a protonok magspinjét kitérítjük nyugalmi helyzetükből és detektáljuk azok visszatéréséhez szükséges időt (relaxációját) [*Hore, 2004*]. Az MRI kép kontrasztját a protonok három alapvető tulajdonsága befolyásolja: a protonok sűrűsége, a T1 (spin-rács) és T2 (spin-spin) relaxációs idő. A képek kontrasztját sok egyéb paraméter is befolyásolja, elsősorban a szövetek mágneses inhomogenitása, a hőmérséklet, különféle mozgások, mint például a szöveti diffúzió, a véráramlás [*Schaefer, 1996; Bonnemain, 1996; Martos & Zaránd, 2000*].

A Röntgen képekkel ellentétben az MRI-n a csont nem ad jelet, azonban nem alkalmaznak ionizáló sugárforrást a szervezet átvilágításához, sem pedig izotópot, mint pl. a CT-ben (komputertomográfia). Emellett az előnye a többi szerkezet meghatározását végző módszerrel szemben, hogy jobb a felbontóképessége a lágy szövetek esetén, mely kontrasztanyag használatával tovább fokozható, a kóros elváltozások kimutathatóságát növeli. Ehhez az szükséges, hogy megváltoztassa valamelyik, a képalkotásban felhasznált MR paramétert, ezért a kontrasztanyagok általában mágneses tulajdonságúak [*Schaefer, 1996; Bonnemain, 1996; Martos & Zaránd, 2000*]. A képalkotás alapja az adott sejtekben található protonok száma és azok relaxációs ideje.

A vizes MF-k kontrasztanyagként alkalmazhatók a jelenleg használt gadolínium-komplex helyett, mivel a folyadékok mágneses nanorészecskéket tartalmaznak. A mágneses tulajdonságuk miatt a T1 relaxációs időt képesek rövidíteni és így a kontrasztot növelni. Ha részecske hidrofíl borítással rendelkezik, akkor a vízmolekulák közelebb tudnak jutni a mágneses maghoz és így a víz protonjainak relaxációs ideje befolyásolható. A nanorészecskék nagy mágneses inhomogenitást okoznak mikrokörnyezetükben, ami a T2 relaxációs időket mérve a felvételeken nagy elvesztéseket okoz (lerövidül a relaxációs idő), így növelve a kontrasztot a különböző szövetek között [Jain *et al.*, 2008]. A relaxációs időket egy szövetminta-térfogatban pontról pontra mérve és ábrázolva, 1 cm<sup>3</sup>-s felbontású fantomkép kapható bármely szövetmintáról [Martos & Záránd, 2000].

A gadolínium komplex kiváltása azért vált egyre sürgetőbb feladattá, mivel a megnövekedett MRI felhasználás során a kontrasztanyag fokozott alkalmazásával egyre több kerül ebből a ritkaföldfémből a természetes vizekbe. A komplex formában igen alacsony toxicitással rendelkező gadolínium a vizeinkbe jutva felhígul, ezáltal kiszabadul komplex formájából és az ionos Gd<sup>3+</sup> viszont már magas toxicitással rendelkezik (2.2.1.2. ábra) [Schaefer, 1996]. Jelenleg a Duna vizében már mérhető mennyiségben megjelentek a gadolínium ionok, melyek a halállományt jelentős mértékben mérgezik. Így környezetvédelmi szempontból is célszerűbb lenne egy megbízhatóbb, nem mérgező anyagot alkalmazni.



2.2.1.2. ábra A toxicitás és a gadolínium ion - DOTA<sup>4-</sup> kelátképző kölcsönhatásának összefüggése.

Ez a hígulási folyamat természetesen az intravénás bejuttatás esetén az emberi szervezetben is lejátszódik, csak kisebb mértékben, mivel az érpályákban lévő folyadék térfogata is kevesebb. Azonban a gadolínium ion erős toxicitása mellett a komplex képző jelenléte is hatalmas problémát jelent, mivel képes megkötni a szervezetben jelen lévő egyéb fémionokat transzmetallációval, ezáltal akár enzimek működését is gátolva [Schaefer, 1996].

A kontrasztképző hatást nagymértékben befolyásolja a paramágneses anyagok párosítatlan elektronjainak száma. Ebből a szempontból a Gd-ion az ideális a maximális 7

párosítatlan elektronjával. A fémionokat körülvevő vízmolekulák protonjainak relaxációja dipolár kölcsönhatáson megy keresztül a fémion elektronjaival, ezáltal módosítva a relaxációs időt és a kapott MRI képet [*Schaefer, 1996*]. Azonban a fentebb bemutatott toxicitással kapcsolatos problémák elkerülése végett komplex képzőkkel együtt alkalmazzák a kontrasztfokozó iont, ez azonban nem jelent tökéletes megoldást. Amellett, hogy a komplex képző is toxikus, elfedi a  $Gd^{3+}$  relaxációt befolyásoló hatását. Manapság egyre több cikk jelenik meg azzal kapcsolatban, hogy az extracellulárisan alkalmazott Gd-os kontrasztanyagok végstádiumos vesebetegeknél (akik folyamatos dialízisre szorulnak) NSF (nefrogén szisztémás fibrózis) betegséget idéznek elő. Ezen betegekben a kontrasztanyag keringési félélet-ideje másfél órától akár 30 órára is nőhet, így elősegítve a transzmetallációt [*Morcos, 2007*]. Ez egy újabb indok a  $[GdDOTA]^-$  komplexet kiváltó MF alapú kontrasztanyagok kifejlesztésére.

A szuperparamágneses részecskék a jelenleg használt kontrasztanyagokkal összehasonlítva nagymértékben megváltoztatják a víz protonjainak T1 (spin-rács vagy longitudinális) és T2-es (spin-spin vagy transzverzális) relaxációját, így fokozva a kontrasztot a vizsgálatok során az egyes szervek és szövetek között [*Bonnemain, 1996*]. A mágneses tulajdonságok mellett a képalkotás folyamán a kapott kép kontrasztját nagymértékben befolyásolja a részecskék mérete, kölcsönhatásai a mikrokörnyezettel, hidrofíl (vizet kedvelő) jellegük, kristályossági állapotuk. Fontos, hogy a végtermék meg tudja őrizni mindazon pozitív tulajdonságait, mely a kiindulási nanorészecskét alkalmassá tette kontrasztanyagnak [*Bonnemain, 1996*]. Az MF-k nagyobb érzékenysége mellett előnyös a szervezetbarát összetételük, valamint az, hogy a jelet befolyásoló nanorészecskék méretüktől függően más és más szövetben halmozódnak fel, így nagyobb felbontást tesz lehetővé a különböző szervek képi megjelenítésében. A 2.2.1.3. ábrán egy MRI felvétel látszik, ahol mágneses folyadékkal tették láthatóvá az érpályákat egy emberi agyban.

A nanorészecskék felhasználását MRI kontrasztanyagként változatossá teszi a különböző borítása, mind orális (szájon keresztüli) mind intravénás alkalmazás esetén. A borító molekula alapvetően befolyásolja a részecskék mágneses tulajdonságait, elfedheti, illetve erősítheti is a kontrasztképzés hatásfokát. Legfontosabb paraméter a vízzel való kölcsönhatása, mivel a detektálás a felvételek során a vízmolekulák protonjain keresztül történik. Így a borító réteg hidrofíl tulajdonságaival módosíthatjuk a felbontóképességet (a kapott kép élességét, részletgazdagságát), adott területet hangsúlyosabbá tehetünk [*Bonnemain, 1996; Schaefer, 1996*]. Magnetit alapú mágneses folyadékokat már



termékként is megvásárolhatunk kontrasztanyagként való felhasználásra. Az USA-ban egyre inkább szorítja ki a jelenlegi gadolíniumos oldatokat, a kontrasztanyaggal készült MRI felvételek 5-7%-ban alkalmazzák már a vas-oxid tartalmú termékeket. Ez az első felhasználási terület a vizes közegű mágneses nanorészecskék esetén ahol már a kutatások egy piacon lévő terméket eredményeztek (pl.: Endorem, Limurem, Resovist) [[Pankhurst et al., 2003](#); [Saiyed et al., 2003](#); [Yan et al., 2007](#), [Jain et al., 2008](#)].



**2.2.1.3. ábra** Az agy érpályáinak axiális felvétele (MRI) (Joseph P. Hornak felvétele).

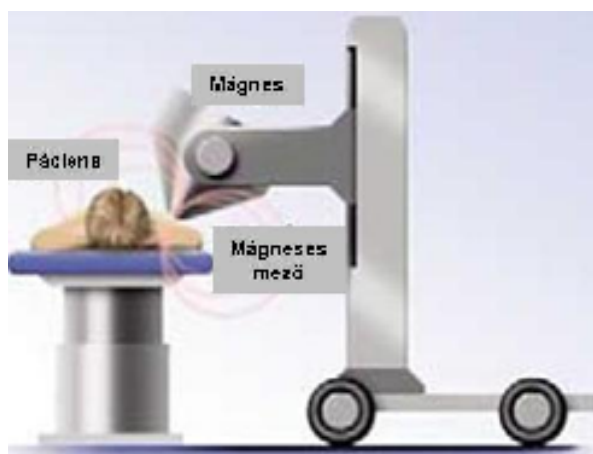
A szuperparamágneses vas-oxid részecskék hatékonysága jóval nagyobb, mint a kis vagy makromolekulás gadolínium komplexeké és kevésbé megterhelő az emberi szervezet számára. A ~30 nm-es részecskék gyorsan összegyűlnek a májban és a lépben, a <10 nm-eseknek viszont hosszabb a fél-élet ideje, a retikulo endoteliális rendszerben (RES) halmozódnak fel, beleértve a nyirokcsomókat és a csontvelőt. Így segítik elő a rosszindulatú nyirokcsomó, máj és agy-daganatok kimutatását [[Pankhurst et al., 2003](#); [Bahadur & Giri, 2003](#)].

## **2.2.2. Mágneses hipertermia**

A hipertermia azt jelenti, hogy a testhőmérséklet átmenetileg emelkedik. A tumoros szövetekbe juttatott mágneses folyadék nanorészecskéi külső váltakozó mágneses tér hatására mozgásba jönnek, vagy a részecskék (Brown rotáció), vagy csak a mágneses momentumuk (Neél rotáció) fordul el, miközben a mozgás energiája disszipálódik, hő szabadul fel (2.2.2.1. ábra). Amennyiben ez a hőmérséklet-emelkedés eléri a 42°C-ot és megfelelő ideig eltart (minimum 30 perc) a sejtekben a fehérjék kicsapódnak és a sejt elpusztul. A terápia alapja, hogy a tumoros sejtek jóval érzékenyebbek a hőmérséklet emelkedésére, mint az egészséges sejtek. Amennyiben ezt a hőmérséklet-emelkedést kis



területre lehet korlátozni, úgy csak azon a területen pusztulnak el a sejtek. Ezt használják ki a rákos betegek esetén az egészséges sejtek megóvása érdekében, így kiegészítő kezelésként használhatók daganatos betegségek kezelésekor, ezzel is csökkentve a kemoterapeutikumok dózisát és mellékhatásait (fekélyek - ulcus, hajhullás - atrichosis, émelygés - nausea, fehérvérsejtek számának kóros csökkenése - leucocytopenia) [Babincová et al., 2000; Pankhurst et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; Blue et al., 2009].



2.2.2.1. ábra Mágneses hipertermiás berendezés sematikus rajza.

A mágneses folyadékok kutatásának története hipertermia előidézésében 1957-ig nyúlik vissza, amikor Gilchrist és társai különböző szöveteket melegítettek úgy, hogy 20-100 nm átmérőjű  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -t alkalmaztak, amit 1,2 MHz mágneses mezővel melegítettek [Gilchrist et al., 1957; Bahadur & Giri, 2003]. Széles körű publikációs lista írja le a különböző eljárásokat a mágneses anyagok hipertermiában történő felhasználását, különböző erősségű mezők és frekvenciák segítségével. A részecskék mozgatásához megfelelő erősségű és frekvenciájú váltakozó mágneses mezőre van szükség [Babincová et al., 2000; Pankhurst et al., 2003]. Az elméleti számolások alapján hatékony mágneses hipertermia kiváltásához 5-10 mg mágneses anyagnak kell lenni a tumoros szövetekben  $\text{cm}^3$ -ként, ami több nagyságrenddel nagyobb, mint a valaha publikált legnagyobb koncentráció [Pankhurst et al., 2009].

A 70-es évektől kezdve már in vivo tumor kísérleteket is végeztek a kutatók, azonban mind a mai napig nem sikerült optimalizálni a kísérleti körülményeket. A mágneses térrel kiváltható hőmennyiség nagymértékben függ a nanorészecskék mikro környezetében lévő faktoroktól, mint pl. a pH [Wust et al., 2002].

A melegítés során a váltakozó mágneses tér alkalmazását korlátozza a nagy térerősségre kialakuló esetleges ártalmas fiziológiás válasz. Ilyen például a perifériás- és vázizmok vagy a lehetséges szívizmok izgatása, aritmiája esetleg a szövetek nem

specifikus melegítése. Az általában alkalmazott frekvencia és amplitúdó nagysága  $f = 0,05 - 1,2$  MHz és  $H = 0-15$  kAm<sup>-1</sup> közötti tartományt öleli fel.

A mágneses anyagok alkalmazhatósága, melyektől a kívánt hatást elvárják, nagymértékben függ attól, hogy hogyan történik az adott anyag szervezetbe való bejuttatása. Például közvetlen a kívánt területre való beinjekciózással nagymértékben növelhető az adott területen való lokalizáció, az intravénásan történő bevitelhez, vagy az antigénhez kötött célba juttatáshoz viszonyítva. A megfigyelések azonban azt mutatják, hogy a daganatos sejtek már egyszeri hipertermiás kezelést követően képesek érzéketlenné válni a hőhatással szemben. Ez az ellenálló képesség 48 óráig tart [*Wust et al., 2002; Ito et al., 2007*]. Így a kutatók arra törekednek, hogy kombinálják a hipertermia és a célzott hatóanyag (kemoterapikum) szállítás módszerét. Így a rák gyógyítás ígéretes területe a mágneses mezővel előidézett hipertermia, amivel lecsökkenthető az életképes rákos sejtek száma, amelyeket a kombinált lokális kemoterápia képes eliminálni [*Pankhurst et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003*].

A kutatók azonban a hipertermia egy drasztikusabb változatát, a szövetek 55°C-ra történő melegítését részesítik előnyben. Javaslatukat azzal indokolják, hogy az alacsonyabb hőmérséklet esetén a daganatok 50% visszano, míg a magasabb hőmérséklet, noha az egészséges sejtek egy részét is elpusztítja, azonban az alkalmazás során a daganatok visszafejlődése pár százalék alatt marad. Ezen eljárás kivitelezése még kérdéses, mivel meg kell oldani az emberi szervezeten belüli hozzáférhetőségi problémákat. A daganatoknak csak egy része helyezkedik el a testfelszínhez közel, másik része mélyen fekvő területeken alakul ki, így az alkalmazott mágneses tér számára nehezen elérhető. Fontos, hogy megfelelő térerősségű és frekvenciájú mágneses mezőt alkalmazzunk, hogy ne tapasztaljunk kölcsönhatást az élő szervezet és a mező között [*Babincová et al., 2000; Brigger et al., 2002; Saiyed et al., 2003; McNeil, 2005; Alexiou et al., 2005*].

### 2.3. Magnetit

A mágneses tulajdonságok felismerése a természetben is előforduló mágnesvaskőhöz fűződik, melyet származási helye után magnetitnek is neveznek. Kétezer évvel ezelőtt írták le először a magnetit mágneses tulajdonságait és Plinius leírásaiból az is kiderül, hogy a magnetit segítségével felmágneseztek más vastárgyakat is, melyeknek mitikus erőt tulajdonítottak. A mágnesvaskő fekete színű, ferrimágneses anyag, Curie hőmérésklete 850 K-nél található [*Cornell & Schwertmann, 1996*]. Ez utóbbi azt jelenti, hogy az atomok ellentétes irányú mágneses nyomatékainak eredője nem nulla, hanem

kompenzálatlan mágneses nyomatékuk van [Bokor & Szeless, 1975]. Ezzel szemben a nanoméretű magnetit részecskék szuperparamágnesesek. A szuperparamágneses anyagok a paramágnesekkel hasonló tulajdonságúak, de jóval nagyobb, a ferromágneses anyagokéhoz mérhető mágneses szuszceptibilitásuk [Atkins, 1992; Hevesi, 1998]. A nanorészecske maga egy mágneses domén, ami a tér irányába fordul, míg a részecske szabadon rotálhat a Brown féle hőmozgásnak megfelelően. Minden egyes részecske egyetlen elemi mágnesnek tekinthető, a rendkívül kis méretű részecskék mágneses szempontból a makroszkopikus anyag telítési mágnesezettségéhez hasonlíthatók [Zrínyi, 1999].

A magnetit, a vas-oxidok családjába tartozó,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ( $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ ) összegképletű kettős oxid. Magnetit volt az első ásvány, melynek felvettek 1915-ben Röntgen diffraktogramját. Szerkezete inverz spinel, kristálytanilag a szabályos holoéderes osztályba tartozik, az oktaéderes helyeken lévő valamennyi kation (az összes  $\text{Fe}^{2+}$  és az  $\text{Fe}^{3+}$  fele) párosítatlan elektronjai között olyan mágneses kölcsönhatás jön létre, amely azonos spinbeállással lokális ferromágneses rácsszerkezetet biztosít, míg a tetraéderes helyeken lévő kationok párosítatlan elektronjai (az  $\text{Fe}^{3+}$  ionok fele) egy hasonló, de az előzőtől független ferromágneses rácsot hoznak létre [Cornell & Schwertmann, 1996]. A szintetikus magnetit nanorészecskék előállítása igen távoli múltra tekint vissza [Elmore, 1938; McKeehan, 1940]. Felhasználásuknak nagy térhódítása előnyös tulajdonságainak köszönhető. A magnetit felülete poláris (nagy energiájú), hidrofil; vízben diszpergálva felületén jellemzően változó töltések alakulnak ki [Cornell & Schwertmann, 1996; Tombácz et al., 2007].

## 2.4. Szilárd folyadék határfelület, adszorpció

A szilárd részecskék felületén állandó- és változó felületi töltés alakulhat ki. A permanens töltés a rácsban bekövetkező izomorf helyettesítések eredménye, míg a változó töltés az oldat összetételétől függ, mivel az oldott anyagokkal való kölcsönhatás révén jön létre (pl. oxidoknál a  $\text{H}^+/\text{OH}^-$  ionok és az elektrolitok) [Sposito, 1992; Tombácz, 2002; 2003].

A szilárd részecske (adszorbens) felülete folyadékba merítve mindig teljesen borított az oldószerrel, ez a nedvesedés, ill. solvatáció, vizes közeg esetében pedig a hidratáció. Az oldat komponensei felhalmozódhatnak (adszorbeálódhatnak) a szilárd felületen, versengés folyik a szilárd felületért az oldott anyag (adszorptívum) és az oldószer molekulái között, ill. az oldott anyag molekuláiért a szilárd felület és az oldószer között. Az anyagi minőség, az adszorbens felületének polaritása, az oldószer anyagi

minősége és az oldott anyag molekuláinak szerkezete befolyásolja az adszorpciót [Tombácz, 2002]. Az szilárd-folyadék határfelület a szilárd anyag, az oldott spéciesek és az oldószer között lejátszódó különböző egyensúlyi folyamatok eredményeként alakul ki, vizes közegben ezek a következők: hidratáció, hidrolízis, a funkciós csoportok reakciói, adszorpció (fizikai és/vagy kémiai), abszorpció, komplexképződési reakciók, szélsőséges esetekben felületi kicsapódás is bekövetkezhet [Tombácz, 2002].

Vizes szuszpenziókban az összes poláris felület jól hidratált. A vízdipólusok erős kölcsönhatása miatt a szilárd anyagok nagy része valamilyen mértékben oldódik. Ez az oldódás nem sztöchiometrikus [Sposito, 1992].

Az oldat adszorpció vizsgálata kísérleti úton egyszerűbb, mint a gáz adszorpcióé, azonban az eredmények értékelése jóval bonyolultabb. Az adszorpció jellegétől függően más és más izotermákat kapunk. Giles csoportosította az izotermákat, négy osztályt különböztetett meg, úgymint az S, az L (Langmuir), a H (high affinity), és a C (constant) típusút [Giles, 1974]. Az oldott spécieszek a részecske felületén adszorbeálódnak, lényegesen megváltoztatva azok felületi töltéstudományait és ennek következményeként a részecske-részecske kölcsönhatásokat, melyeket befolyásol a pH és az ionerősség is.

Az adszorpciót vizes közegben általában állandó ionerősség mellett vizsgálják. Ennek oka, hogy a jelenlévő elektrolit nagymértékben képes befolyásolni a fémion oldatfázisbeli egyensúlyait pl. komplexképző sajátosságai miatt. Az oldott indifferent elektrolitok (pl. magnetit esetén NaCl) töltésárnyékoló hatásuk révén befolyásolják az adott pH-n kialakuló felületi töltéssűrűséget [Cornell & Schwertmann, 1996]. Az ionerősség változásával a felületen kialakult töltések is változnak (pl. ha nő az elektrolit mennyisége, megnövekszik a magnetit részecskék felületi protontöbblete), mely befolyásolja az adszorpció mértékét.

Az oldatfázisban lejátszódó pH-függő disszociációs egyensúlyokat is figyelembe kell venni a határfelületi folyamatok leírásánál, mert az adott körülmények között létező speciesz vesz részt a határfelületi egyensúlyban. Az adszorpció során a felületi komplex kialakulása következtében a pH eltolódhat, mely befolyásolja a felületen kialakult töltéseket.

A szilárd részecske felületén adszorbeálódott ionok a szilárd felülethez közelebb vagy távolabb helyezkednek el a méretüktől, töltésszámuktól, valamint a felületi helyekkel kémiai kötés létesítésére való hajlamuktól függően. A részecskék körüli ionok nanométernyi távolságban nem homogén eloszlásúak, lokális elektrosztatikai tér alakul ki a részecskék körül a felületen felhalmozódó töltések miatt [Tombácz, 2003]. A külső és

belsőszférás komplexek kialakulásával a felületközele, Stern-rétegben lévő töltések csökkenhetnek, nőhetnek, és akár előjelet is válthatnak.

A töltéshordozók felületközele megoszlásának leírására a felületi disszociációs és komplexálási modellek szolgálnak (pl. "Surface Complexation Models", elterjedt rövidítése: SCMs), amelyek lényegében kombinálják a koordinációs kémiát az elektromos kettősréteg elmélettel.

Az oxid részecskék felületén lévő legfelső réteg hiányosan koordinált kationjai (pl.  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) felületi OH csoportok képződésével reagálnak a vízmolekulákkal, hogy koordinációs szférájuk teljessé váljon. Az oxid részecskék felületén, már a gáztérből kemisorbeálódó víz molekulák jelenlétében -OH csoportok alakulnak ki, a vas atomok koordinálódnak a vízmolekulákkal megosztva a magányos elektronpárjaikat, és a víz disszociál (disszociatív kemisorpció), felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportok alakulnak ki [Tombácz *et al.*, 2009]. A vas-oxidok hidroxileződése gyors reakció, amelyet követ a további vízmolekulák adszorpciója.

A vizes fázissal érintkező vas-oxid részecskék felületén elektromos töltések halmozódnak fel a határfelületi rétegben lejátszódó protolitikus folyamatok miatt, és a vízben diszpergált részecskék töltéshordozóvá válnak. A felületi töltéssűrűség kísérletileg hozzáférhető mennyiség, mivel a felületi többletkoncentrációt, adszorpciós mérésekkel meg lehet határozni [Tombácz, 2003].

A magnetit amfoter tulajdonságú, a savas ( $\text{pH} < \sim 2$ ) és a lúgos ( $\text{pH} > \sim 12$ ) oldatokban oldódik, a felületén levő  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportok a közeg kémhatásától függően  $\text{H}^+$  felvételére illetve leadására alkalmasak létrehozván a pH-függő előjelű és mennyiségű felületi töltéseket [Cornell & Schwertmann, 1996; Illés & Tombácz, 2006]. A közeg kémhatásától függően a felületen töltések jelennek meg az aktív helyek protonálódása illetve deprotonálódása révén. Az adott pH-n kialakuló felületi töltéssűrűséget az oldott elektrolitok töltésárnyékoló hatásuk révén befolyásolják [Cornell & Schwertmann, 1996].

A változó töltést hordozó részecskékre, így az oxidokra is jellemző sajátosság a nulla töltésállapot a p.z.c. (point of zero charge). Mivel az oxidok töltése a pH-tól függ, ezen a pH-értéken a felület nettó töltése nulla (a pozitív és negatív töltések száma egyenlő a felületen) [Lyklema, 1987; 1995]. Ennél alacsonyabb pH-k esetén a magnetit protonálódik, és pozitív  $\equiv\text{Fe-OH}_2^+$  helyek alakulnak ki. Magasabb pH értékek mellett, pedig deprotonálódás játszódik le, ennek eredményeként negatív  $\equiv\text{Fe-O}^-$  helyek jönnek létre. Az adott pH-n kialakuló felületi töltéssűrűséget az oldott elektrolitok töltésárnyékoló hatásuk

révén befolyásolják [Cornell & Schwertmann, 1996; Sun et al., 1998; Gomez-Lopera et al., 2001; Illés & Tombácz, 2006; Tombácz et al., 2006]. Az amfoter felületek jellemzéséhez fontos a p.z.c érték ismerete, mivel ez az oxidok anyagi minőségétől függő tulajdonság. A tiszta, adszorbeált ligandum nélküli mágneses részecske felületi töltéssűrűségét a hidroxil csoportokkal borított felület protonálódási/deprotonálódási egyensúlyai határozzák meg, pH=5-10 között általában aggregáltak a részecskék, a nulla töltésállapot pontja (p.z.c.) pH~7,3 [Fauconnier et al., 1999]. Az általunk előállított magnetit nanorészecskékre potenciometriás sav-bázistitrálással meghatározott p.z.c. érték (~8) jó egyezést mutat az irodalmi adatokkal [Tombácz et al., 2007]. A részecskék felülete jól hidratált a nagy mennyiségű felületi hidroxil csoport miatt, így a p.z.c. körüli pH értékeknél laza aggregátumokként ülepednek ki. A p.z.c.-tól lényegesen kisebb vagy nagyobb pH-k és kis ionerősségek esetében stabil szuszpenziót képeznek. Specifikusan adszorbeálódó ionok (pl. citrát, humát, oleát) azonban megváltoztathatják a kolloid stabilitási viszonyokat [Tombácz, 2003]. A magnetit felületén történő specifikus adszorpció hatására a fiziológiás pH körül az aggregáció elmarad, és stabil szuszpenziót képez. Amfoter részecskék (pl. fém-oxidok) esetén létezik egy olyan pH, ahol az elektroforetikus vándorlási sebesség nulla. Ez az elektrokinetika mérésekkel meghatározható pH az izoelektromos pont (i.e.p.) [Hunter, 1988]. Az izoelektromos pont környékén a rendszer nem stabil, a részecskék az elektrosztatikus taszítás hiányában koagulálnak [Tombácz, 2003].

A vas-oxid nanorészecskéken vizes közegben az oldott molekulák felületi felhalmozódása révén egy burkoló réteg alakulhat ki. Ez a kölcsönhatás lehet fizikai (pl. ionokkal Coulomb típusú vonzó kölcsönhatás, polimerekkel és nemionos felületaktív anyagokkal van der Waals kölcsönhatás révén), vagy kémiai, mint például a felületi komplexálás során kialakuló kémiai kötés a molekula és a nanorészecske felületi aktív helyei között. Erre jó példa a poliakrilsavnak, citromsavnak vagy nátrium-oleátnak az általunk is alkalmazott karboxilát ( $-\text{COOH}$ ) csoporton keresztül történő megkötődése a felületi  $\equiv\text{FeOH}$  helyeken [Hajdú et al., 2008].

Matijević és munkatársai [Kallay & Matijević, 1985; Zhang et al., 1985] írták le először az oxálsav és a citromsav kemisorpcióját hametit nanorészecskék felületén. Méréseik során kiderült, hogy az adszorpciót nagymértékben befolyásolja a pH. Kutatásaik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a citromsav bi- vagy tridentát módon (2 vagy 3 karboxil csoporttal) kötődik meg a vas-oxid felületén, azonban az utóbbi eset geometriai okokból nem valósulhat meg [Kallay & Matijević, 1985; Zhang et al., 1985].

A zsírsavak adszorpciójának vizsgálata magnetit nanorészecskéken egészen az 1980-as évekig nyúlik vissza. A különböző láncossúságú (C6–C18) karboxil csoporttal rendelkező zsírsavak kettős réteg kialakításával stabilizálják a vas-oxidokat [Wooding et al., 1991; Avdeev et al., 2004; Bica et al., 2007; Bronstein et al., 2007]. Azonban a gazdag irodalmi háttér ellenére az adszorpció klasszikus tanulmányozása elmaradt.

## 2.5. Kolloid stabilitás

A kolloid mérettartományba eső részecskéket tartalmazó szuszpenziók stabilitását, a részecskék között ható adhéziós kölcsönhatások határozzák meg. A részecske-részecske kölcsönhatás a határfelületi réteg összetételétől és szerkezetétől függ. Vizes közegben a részecskék közötti kölcsönhatásokat alapvetően a részecskék lokális elektrosztatikus tere, az elektromos kettősréteg szerkezete határozza meg [Hunter, 1987; Tombácz, 2003].

A kolloid méretű részecskék hőmozgás révén ütközhetnek, melynek során megközelítik egymást egy bizonyos távolságra, határfelületi rétegeik átlapolódhatnak. Az ütköző részecskék között különféle kölcsönhatásokat tudunk alapvetően megkülönböztetni, a van der Waals, az elektromos kettősréteg és a szerkezeti erőket. Mindhárom kölcsönhatás lehet vonzó és taszító is a részecske és a közeg minőségétől függően [Shaw, 1986].

A van der Waals kölcsönhatás, többnyire vonzási energiája függ a részecskék és a közeg minőségétől, valamint a részecske geometriájától. Hamaker és munkatársai [Hamaker, 1937] a következő egyenletet adták meg a potenciál jellemzésére  $a_1$  és  $a_2$  gömbök kölcsönhatására, ha  $h \ll a_1$ :

$$V_A = \frac{-A_{132} a_1 a_2}{6 h (a_1 + a_2)},$$

ahol  $A_{132}$  a Hamaker állandó (ami nem csak a részecskék anyagi minőségétől függ, hanem a diszpergáló közegtől is),  $h$  pedig a részecskék közti távolság.

Az elektromos kettősrétegek kölcsönhatása töltéshordozó részecskék ütközésekor fordul elő. Valójában a taszítási kölcsönhatás csak azonos töltés előjelű részecskék esetén taszítás. Az elektrosztatikai kölcsönhatás két részecske kettősrétege között függ a részecskék töltésállapotától, geometriájától, és a közegben lévő elektrolit mennyiségétől illetve minőségétől. Az elektrosztatikus kölcsönhatási energiát a Poisson-Boltzmann egyenlet megoldásával lehet megadni. Nem azonos  $a_1$  és  $a_2$ , kis potenciálú gömbök kölcsönhatása esetén:



$$V_R = \frac{128 \pi a_1 a_2 n_\infty kT}{(a_1 + a_2) \kappa} \gamma_1 \gamma_2 \exp(-\kappa h)$$

ahol  $\kappa$  a Debey távolság reciproka,  $\gamma_1$  és  $\gamma_2$  a felület diffúz réteg potenciáljától függő paraméter,  $n_\infty$  az elektrolitkoncentráció a felülettől végtelen távolságra,  $k$  a Boltzmann állandó,  $T$  a hőmérséklet,  $h$  a távolság a két gömb alakú részecske között [Elimelech et al., 1995].

Ezeket a vonzó és taszító erőket nevezzük DLVO erőknek, míg az adszorbeált rétegek jelenlétében fellépő rövid hatótávolságú ún. szerkezeti vagy hidratációs erőket ( $V_s$ ) "nem-DLVO erők"-nek nevezik [Elimelech et al., 1995]:

$$V_s = 4\pi a kT (\frac{1}{2} - \chi) \Gamma^2 \exp(1 - h/2\delta)$$

ahol  $\chi$  a Flory-Huggins paraméter, mely ha  $< 0,5$  taszító kölcsönhatásként jelenik meg a  $V_s$ , ha  $> 0,5$  akkor vonzó tagként,  $\Gamma$  az adszorbeált többletmennyiség,  $\delta$  a Debey távolság.

A sztérikus stabilizálás során a stabilitás növekedéséért a felületen adszorbeálódott molekula oldószerbe, jelen esetben vízbe benyúló része felelős, mely két részecske ütközésekor megfelelő távolságot biztosíthat, hogy a vonzó kölcsönhatások ne érvényesülhessenek és az összetapadás ne következzen be. A két stabilizálás kombinációja is kialakulhat, ebben az esetben elektrosztérikus stabilizálásról beszélünk [Shaw, 1986; Tombácz, 2003].

A mágneses részecskék esetén azonban egy mágneses, mindig vonzó kölcsönhatást is szükséges figyelembe venni a teljes potenciál számolása során, mivel a kölcsönható részecskéknek mágneses momentuma van. A mikrométer tartományába eső részecskékre az elméletet már évtizedekkel ezelőtt kidolgozták Svoboda és munkatársa [Svoboda & Zofka, 1983]. A mágneses tér hatása az anyagi minőségen (mágneses szuszceptibilitás) kívül jelentősen függ a részecskemérettől. A mágneses potenciál, az azonos minőségű részecskék mágneses dipóljai közötti vonzó kölcsönhatás kiszámítható a következő összefüggés alapján:

$$V_M = \frac{-32 \pi^2 \chi^2 a^6 B_o^2}{9 \mu_o h^3}$$

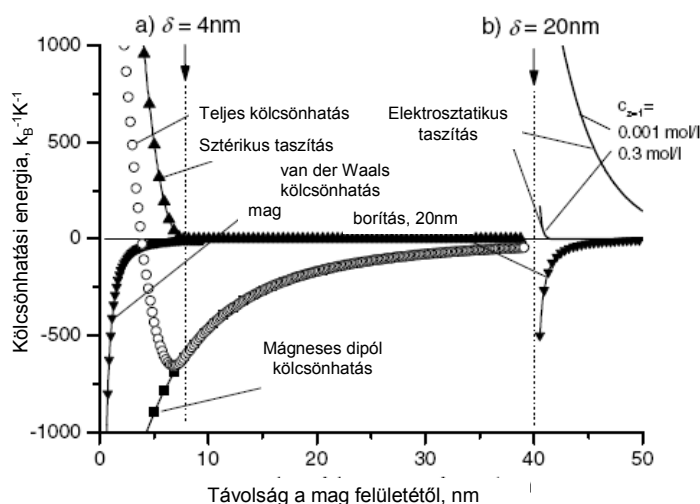
ahol  $a$  a részecskék sugara,  $\chi$  a részecske mágneses szuszceptibilitása,  $B_o$  a mágneses indukció,  $\mu_o$  a mágneses permittivitás vákuumban,  $h$  a két részecske közötti távolság.



A nanorészecskék kolloidstabilitására Ederbeck és munkatársai írtak le az elméleti hátteret a mágneses kölcsönhatásokat is figyelembe véve [Ederbeck et al., 2006]. Így a teljes potenciál számítása esetén a mágneses részecskék közötti vonzó (mágneses dipólusok és van der Waals) és taszító (elektrosztatikus és sztérikus) kölcsönhatásokat, a kolloid stabilitásukat a következő képlettel írhatjuk le:

$$V_T = V_A + V_R + V_S + V_M$$

ezáltal a teljes potenciált, az eredő kölcsönhatást befolyásoló tényezők: a van der Waals vonzás ( $V_A$ ), az elektromos kettősréteg taszítása ( $V_R$ ), a sztérikus szerkezeti erők ( $V_S$ ) és a mágneses vonzás ( $V_M$ ). A mágneses vonzás függ a részecskemérettől, a szuszeptibilitástól és a mágneses térerőtől [Svoboda & Zofka, 1983].



**2.5.1. ábra** Mágneses nanorészecskékre számolt eredő kölcsönhatási energia, 4 illetve 20 nm-es burkoló réteg jelenléte esetén [Ederbeck et al., 2006]. A szaggatott vonal jelzi a mágneses mag felszíne és a borítás közötti távolságot.

Ederbeck és munkatársai figyelembe vették elméleti számolásaik során a részecskéket borító réteg szerepét is (2.5.1. ábra). A stabilizáló réteg vastagságától függően (4 illetve 20 nm) a sztérikus taszítási potenciál értéke megnő, míg a van der Waals vonzó potenciál állandó, így a taszító kölcsönhatások kompenzálni képesek a vonzó kölcsönhatásokat és a részecskék összetapadása elmarad [Ederbeck et al., 2006]. A 2.5.1. ábrán a jelenlévő elektrolit hatása is látható az elektrosztatikus kölcsönhatásokra, 0,001 mol/L elektrolit mellett az elektrosztatikai taszítás nagyobb, azonban 0,3 mol/L-nél a taszítás nagymértékben lecsökken.

Az  $\equiv\text{Fe-OH}$  felületi helyekkel komplexet képző vegyületek különböző variációi alkalmasnak tűnnek a vas-oxid nanorészecskék stabilizálására vizes közegben. A különféle

funkciós csoporttal rendelkező ligandumok, pl. a hidroxil vagy tiol polikarboxilátok (pl. borkősav, glukonsav vagy dimerkapto szukcinát) és az arginin hidroxamát képesek megkötődni a nanorészecskék felületén, az ílymódon módosított nanorészecskéket tartalmazó mágneses folyadékok stabilitásában azonban a pH eltolódásával karakterisztikus változás tapasztalható. A borkősav és a dimerkapto szukcinát esetében érhető csak el megfelelő stabilizáló hatás pH~4 fölött [*Fauconnier et al., 1999*].

A biokompatibilis magnetit nanorészecskéket gyakran dextránnal, polietilén glikollal, polivinil alkohollal és foszfolipiddel, vagy dendrimerekkel és szilikával borítják, amelyek sztéríkusan gátolják a részecskék összetapadását, így stabilizálják az egyedi részecskéket. Bizonyos esetekben kettős réteg alakul ki a felületi felhalmozódás következtében, mely jelentősen megnöveli a mágneses folyadékok kolloid stabilitását. Az orvos-biológiai felhasználás során különösen fontos ez a második réteg, mely vagy a biokompatibilitáshoz szükséges (pl. polietilénoxid), vagy a funkcionizálás miatt elkerülhetetlen a specifikus antitest reakciókban. Ez a réteg létrejöhet fizikai (pl. hidrofób) kölcsönhatások révén, mint például a zsírsavak kettős rétege, vagy kémiai kölcsönhatásokon keresztül (pl. a kovalensen kötött sztreptavidin) [*Pankhurst et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; Saiyed et al., 2003; Gupta & Gupta, 2005*].

## 2.6. Koagulálás kinetika

A kolloid mérettartományban a szilárd részecskék diszperziója termodinamikailag sohasem stabil, a részecskék időben összetapadnak, koagulálnak. A szuszpenzió koagulációjának sebessége függ a részecskék ütközésének valószínűségétől és attól, hogy az ütközések termikus energiájának mekkora hányada haladja meg a taszító potenciált [*Shaw, 1986*]. A kolloid stabilitást, a részecskék ütközési hatékonyságát az érintkezésüket akadályozó energiágnak a hőmozgás energiájához viszonyított nagysága határozza meg. A kolloid stabilitás legegyszerűbb megítélésére a potenciális energiát magasságát célszerű összehasonlítani a részecskék termikus energiájával. A gömb alakú részecskéknél a részecskék közötti kölcsönhatási energiát gyakran  $kT$  egységekben fejezik ki, amennyiben az energiát magassága nagyobb, mint ~20-25  $kT$ , a diszperzió kinetikusan állandó. Az olyan rendszerekben azonban, ahol kisebb ez az energiát, a hőmozgás energiájával összevethető a gát magassága, az ütköző részecskék legyőzik azt és képesek egymást szorosan megközelíteni a viszonylag mély elsődleges minimumig, ahol a van der Waals vonzás tartja össze őket. Ha a részecskék ütközése összetapadásukhoz vezet, a rendszer koagulál [*Shaw, 1986*].

A kolloidok jellemzésére bevezetett stabilitási tényező (**W**) Reerink és Overbeek által levezetett közelítő megoldása a következő:

$$W = \frac{1}{\kappa (a_1 + a_2)} \exp \left[ \frac{V_{T,max}}{kT} \right],$$

melyben megadták a stabilitási tényező összefüggését az eredő kölcsönhatási potenciál függvények maximumaival ( $V_{T,max}$ ). A részecskék összetapadásához le kell küzdeniük az energiagátat, mely az elektrolit koncentrációjának növelésével egyre csökken.

A kolloidstabilitás korrekt kísérleti jellemzése koagulálás kinetikai mérésekkel lehetséges. A diszpergált kolloid méretű részecskék hőmozgást végeznek, egymással ütköznek, ha nincs közöttük taszítás (az eredő kölcsönhatás függvény maximuma eltűnt), akkor minden egyes ütközés összetapadáshoz vezet, gyors koaguláció kezdődik meg. A gyors koagulálás elméleti hátterét Smoluchowski dolgozta ki, majd Fuchs bevezette a lassú koagulálás tartományára a kísérleti úton meghatározható lassítási vagy stabilitási tényezőt:

$$W_{exp} = \frac{k_o}{k}$$

A gyors ( $k_o$ ) és a lassú ( $k$ ) koagulálás sebességi állandóinak hányadosával adható meg a stabilitási tényező. Az a legkisebb elektrolit koncentráció, ahol  $k_o=k$  teljesül, a kritikus koaguláltató koncentráció (c.c.c.), gyors koagulálás esetén  $W=1$  [*Holthoff et al., 1996; Schudel et al., 1997; Tombácz, 2003*].

A vas-oxidok koagulálás kinetikája jól ismert az irodalomból [*Schudel et al., 1997; He et al., 2008*]. Modellként hematit nanorészecskéket alkalmaznak és vizsgálják a pH és ionerősség szerepét az aggregációra. Az eredmények azt mutatják, hogy az azonos ionerősség mellett vizsgált rendszerekben a pH változtatásával drasztikusan változik a részecskék hidrodinamikai átmérője. A kisebb részecskék (~10-50 nm) aggregációja erőteljesebb ezen körülmények között, mint a nagyobbaké (>50 nm). A kritikus koaguláltató koncentráció értéke függ a részecskék méretétől, és értéke csökken a részecskék méretének csökkenésével. Ugyanolyan körülmények között az aggregáció gyorsabb, ha a részecskék koncentrációja nő [*He et al., 2008*].

A mágneses folyadékok stabilitásának jellemzésére azonban mindezidáig nem alkalmazták ezt a vizsgálati módszert és nem határoztak meg sótűrőképességüket.

### 3. Kísérleti anyagok és módszerek

#### 3.1. Kísérleti anyagok

Kísérleti munkám során többségében Sigma-Aldrich gyártmányú, analitikai tisztaságú vegyszereket használtam. Az ettől való eltéréseket a módszerek leíráskor jeleztem. A méréseket szobahőmérsékleten ( $25 \pm 1$  °C) és légköri nyomáson végeztem el.

##### 3.1.1. Magnetit előállítása

Magnetit előállítása nedveskémiai eljárással, a Fe(II) és Fe(III) sók együttes lecsapását leíró régi recepten [Elmore, 1938] alapuló ko-precipitációval történt. A szintézis alatt különös figyelmet kell fordítani a gócképző szennyezők eltávolítására, mivel a góccokon a nanorészecskék növekedése megindulhat, és így méretük befolyásolhatatlanná válik. A porszennyezők, illetve a fel nem oldódott kristályok eltávolítása miatt az oldatok előállítása és alkalmazása előtt minden esetben a vizet és az oldatokat átszűrtem  $0,2 \mu\text{m}$  fecskendő szűrőn. A szintézis során a lehető legkoncentráltabb  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (135,16g  $\sim 100$  ml ultra tiszta vízbe) és  $\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (54,67g  $\sim 100$  ml ultra tiszta vízbe) oldatokat kell készíteni. A Fe(II)-sóból és a lúgból (koncentrált kb. 20 M NaOH)  $\sim 10\%$  felesleget kell alkalmazni, mivel a vas (II) ionok az oldatban gyorsan átalakulnak a levegő oxigénjének hatására vas (III)-á. A tömény vas-só oldatokat össze kell keverni egy főzőpohárban. A szintézis megkezdésekor intenzív keverés mellett, lassan hozzá csepegtettem a lúg-oldat felét, ekkor vörösbarna csapadékot kaptam, miközben enyhén melegedett az edény. A lúg másik felét egyszerre adtam hozzá, ekkor a minta megfeketedik és sűrű masszává áll össze, mely az intenzív kevertetés hatására (kb. 10 perc) homogén szuszpenzióvá alakul. A minta el nem reagált vas-klorid szennyezését és a keletkezett nagy mennyiségű sót ultra tiszta vízzel történő mosogatás segítségével távolítottam el. Ezt követően HCl-el pH $\sim 2$ -ig savanyítottam a magnetit szuszpenziót. A minta tisztítása ultra tiszta vizes mosással történt. A kolloid rendszer öregedését felgyorsítottuk egyszeri 80 °C-os felmelegítéssel, ezáltal egységesebb méreteloszlású nanorészecskék alakultak ki és az összetapadt aggregátumok mérete megnőtt, melyeket mágneses tér segítségével eltávolítottam a szuszpenzióból. A szobahőmérsékletre visszahűlt szuszpenziót fél napig ultrahangos kezelésnek vetettük alá a diszpergálás elősegítése miatt, majd 1 mmol/L HCl-el szemben dializáltuk a maradék só eltávolítása végett. A dializált szolt újabb mágneses dekantálást követően hűtőszekrényben 4 °C-on tároltam. A szuszpenzió magnetit tartalmának, koncentrációjának meghatározását

szárítószekrényben történő szárazanyag tartalom méréssel végeztem. A várható részecske méret: ~10 nm, melyet TEM és XRD mérésekkel igazoltam.

## 3.2. Kísérleti módszerek

### 3.2.1. Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) és röntgen diffrakciós analízis (XRD)

Az elektron sugárnyalábot használó transzmissziós elektronmikroszkóp szilárd testek szubmikroszkópos felbontású leképezésére alkalmas módszer. A minta leképezéséhez 4-5 pm hullámhosszúságú, > 50 keV energiájú elektronhullámokat használnak. Az elektronoptikai kép az elektronoknak a szilárd test atommagjain való rugalmas szóródását illetve elhajlását követően jön létre. Az elektronhullámokat alkalmasan megválasztott inhomogén (mágneses ill. elektromos) térrel fókuszálják, majd fluoreszkáló anyaggal bevont felületre, vagy más detektorra vetítik.

Az előállított nanorészecskék méretanalízisét Philips CM-10 transzmissziós elektronmikroszkóppal Megaview-11 kamera segítségével végeztük. Előkészítés során az adott szuszpenzióból ultra tiszta víz felhasználásával nagy hígítású mintát készítettünk, majd egy-egy cseppet Pasteur-pipettával egy polimer (Formvar) és szén réteggel fedett kisméretű rézhálóra (grid-re) helyeztünk. Ezután a grideket infralámpa alatt hagytuk megszáradni [Nyergesné, 2005; Tombácz et al., 2007; Bauer, 2009]. A lefényképezett területeket úgy választottuk meg, hogy azok az adott mintára reprezentatívak legyenek. Kalibráció után az UTHSCSA Image Tool nevű programmal értékeltük ki a képeket, a leolvasott részecskeméretek alapján hisztogramokat készítettem.

A röntgensugarak diffrakciója a kristályokon a kristály anyagi minőségére jellemző információt szolgáltat. A módszer alapja a röntgensugár és a kristály kölcsönhatása. A röntgensugarak elektromágneses hullámok, jellemző fotonenergiájuk 100 eV – 100 keV, így az elektromágneses színtéren az UV- és a  $\gamma$  -sugarak régiója között helyezkednek el. Diffrakciós vizsgálatokhoz olyan sugarakat alkalmaznak, melyeknek hullámhossza 100 pm-es tartományba esik, mint ahogyan a legtöbb kristályos anyag rácsállandója is. Röntgensugarakat kristályos anyagon átbocsátva elhajlás és interferencia jelenség lép fel. Az intreferenciakép a kristály anyagi minőségére jellemző egyértelmű információt szolgáltat [Burger, 1999; Bauer, 2009]. Az előállított magnetit részecskéket röntgen-diffrakciós módszerrel azonosítottuk. A méréseket Bruker D8 Advance röntgen diffraktométerrel végeztük reflexiós módban  $2\theta = 20^\circ - 80^\circ$  szögtartományban Cu-K $\alpha$

( $\lambda=0,154$  nm) sugárforrást alkalmazva. A diffraktogramokon a röntgensugarak intenzitását ábrázoljuk az ún.  $2\theta$  szög függvényében, ahol a  $\theta$  a kristálysíkok és a beesési sugár által bezárt szög. A minták primer átlagos részecskeátmérője ( $D$ ) kiszámítható a Scherrer-egyenlettel:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta}$$

ahol  $\beta$  a mintára meghatározott vonalszélesség,  $\lambda$  a hullámhossz (0,154 nm), 'k' a Scherrer állandó ( $2 \cdot (\ln 2/\pi)^{1/2} = 0,94$ ) és  $\theta$  a beesési szög [Patterson, 1939]. A diffraktogramok alapján a mintáinkat a JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) kártyák segítségével azonosítottam. Minden esetben liofilizált (fagyasztva szárított) mintákon történt a diffraktogramm felvétele.

### 3.2.2. Mössbauer spektroszkópia

A Mössbauer-spektroszkópia egy nagyérzékenységű nukleáris (gamma-spektroszkópiái) módszer, segítségével,  $10^{-14}$ - $10^{-15}$  pontossággal tudunk relatív energiamérést megvalósítani. A módszer az atommagok környezetében lévő (koordinációs és oxidációs állapot) változások detektálásával szerkezeti információkat (lokális elektromos, mágneses és rezgési) is szolgáltat. Az atommagok energianívói kvantáltak és  $\gamma$ -sugarakkal gerjeszthetők. A gerjesztett mag alapállapotba történő visszatérése  $\gamma$ -sugárzással jár. A Mössbauer spektroszkópia a gamma fotonok visszalökődés mentes, rezonancia abszorpcióján alapszik, melyet Mössbauer hatásnak is neveznek és a módszer alapjául szolgál. A méréshez használatos fotonok egy, a mérendő magnak megfelelő nívóátmenetből állíthatók elő, a  $\gamma$ -sugarak abszorpcióját detektáljuk a forrás mozgási sebességének függvényében [Burger, 1999].

Az elemek egy részének van csak Mössbauer aktív izotópja. A Mössbauer-spektrum vonalainak igen keskeny volta lehetővé teszi a magnívók olyan kis változásainak észlelését is, amelyet a kémiai környezet okozhat.

A spektrumokon megjelenő kvadropólus felhasadás azoknál az atommagoknál jelentkezik, melyeknek magspinje  $\geq 1$ , a felhasadás oka a mag és az azt körülvevő elektronhéj kölcsönhatása. Az atommag mágneses momentumának a belső vagy a külső mágneses térrel való kölcsönhatása okozza a Mössbauer-spektrum hiperfinom mágneses szerkezetét. A fém vas spektrumában hat Mössbauer felhasadás található, a mágneses felhasadás a belső mágneses tér erősségétől függ. Ezáltal egyértelműen

megkülönböztethetőek a vizsgált elem oxidációs állapotai, spinállapotai, elektronhéjuk szimmetriája és kristályszerkezetük. A spektrum ujjlenyomatként is szolgálhat egyes anyagok azonosításához [Burger, 1972; 1999]. A méréseket Walther Meissner Intézetben, Németországban végezték el (Walther-Meissner-Institut der Bayerischen Akademie der Wissenschaften, Garching), egy házilag összeállított Mössbauer készülékkel szobahőmérsékleten (300 K) és alacsony hőmérsékleten (4,2 K) por mintákon, a kiértékeléshez az általuk kifejlesztett szoftvert alkalmaztuk. Sugár forrásként  $^{57}\text{Co}$ -t használtak Rhodiumon, amely minden esetben azonos hőmérsékletű volt a mintával. Két különböző minta lett lemérve, egy esetben a szokásos körülmények között állítottam elő a magnetitet levegőn, a második esetben különös gondossággal ügyeltem a minták levegőtől való elzárására,  $\text{N}_2$  atmoszféra alatt történő előállítására. Mindkét esetben liofilizált mintákat vizsgáltunk.

### 3.2.3. Vibrációs magnetometria (VSM)

A VSM (vibrating sample magnetometer) a minták mágneses tulajdonságainak jellemzésére szolgáló készülék, melynek segítségével felvettük a magnetizációs görbéket a temesvári mágneses folyadék laboratóriumában (Center for Fundamental and Advanced Technical Research, Temesvár, Románia). A mérés során a mágneses folyadékokat egy állandó mágneses térbe helyezzük. A folyadék az alkalmazott mágneses térrel kölcsönhatásba lépve a mintában jelenlévő mágneses domének vagy az egyedi mágneses spinek a tér irányának megfelelően rendeződnek (felmágneseződnek). A minta mágneses dipólmomentuma lokális mágneses teret alakít ki. Amennyiben a mintát fel-le mozgatjuk (rezgetjük), ez az önmaga indukált mező időben változni fog, mely egy erre érzékeny tekercsel követhető. A váltakozó mágneses tér egy elektromos jelet fog generálni a tekercsben a Faraday-féle indukciós elvnek megfelelően. Ez az áram arányos a minta magnetizációjával/mágnesességével [Foner, 1956; 1959].

A készülék (VSM 880, DMS/ADE Technologia, USA), számítógéppel vezérelt, egy elektromágnesből, mely vízhűtővel ellátott, egy vibrációs mintatartóból, érzékelő tekercsből, egy Hall szondából, egy erősítőből és egy irányító panelből áll.

A mintatartóba minden esetben 641  $\mu\text{L}$  mágneses folyadék került bemérésre, amelynek tömege 0,07 és 0,09 g között változott. Az alkalmazott mágneses tér (Oersted) függvényében a specifikus momentumot (Gauss) mértük, majd fajlagosítottam a minta magnetit tartalmának 1 grammjára.



### 3.2.4. Adszorpciós izoterma meghatározása

Az adszorpciós sorozatok összeállításakor mindegyik vegyület (CA, PAA, NaOA) esetén azonos feltételek biztosítására törekedtem. A végtérfogatot minden esetben 10 ml volt, az ionerősség 0,01 M, melyet 1 M NaCl-oldat segítségével értem el. A pH-t NaOH és HCl oldatok segítségével állítottam be pH~6 értékre, ezt pH-mérő segítségével ellenőriztem. A sorozaton belül a magnetit szuszpenzió mennyisége állandó volt, mely ~0,18 - 0,2 g szilárd vas-oxidot jelentett.

Az adszorpciós sorozatokat összeállítva a mintákat 24 órán keresztül hagytam állni, majd a pH ellenőrzése után, szupercentrifugán (Sorvall RC 5b Plus, Du Pont) 1 órán át centrifugáltam percenként 12 000 fordulatszámmal. Ezután a felülúszót pipetta segítségével eltávolítottam, gondosan ügyelve arra, hogy a nanorészecskék ne diszpergáljanak vissza a felülúszóba. Ezt lézerceruzával megvilágítva ellenőriztem. Az adszorpciós izoterma kiszámításához először a felülúszó egyensúlyi koncentrációját határoztam meg. Mindegyik molekula esetén fotometriás meghatározást alkalmaztam a koncentráció meghatározására, melyet a következő fejezetekben ismertetek.

Az egyensúlyi koncentráció és a kiindulási koncentráció ismeretében kiszámítottam a fajlagos adszorbeált mennyiséget, a felületi többletkoncentrációt ( $n^\sigma$ ). A számoláshoz a következő egyenletet használtam:

$$n^\sigma = \frac{V}{m} (c_o - c_e)$$

ahol  $V$  a szuszpenzió térfogata L-ben kifejezve,  $m$  a  $V$  térfogatban lévő magnetit mennyisége g-ban kifejezve,  $c_o$  az adszorptívum kezdeti,  $c_e$  pedig az egyensúlyi koncentrációja mol/L egységben. Majd ezt követően a fajlagos adszorbeált mennyiségeket ábrázoltam az egyensúlyi koncentráció függvényében, és így megkaptam az adszorpciós izotermát [Everett, 1986].

### 3.2.5. UV-VIS spektrofotometria

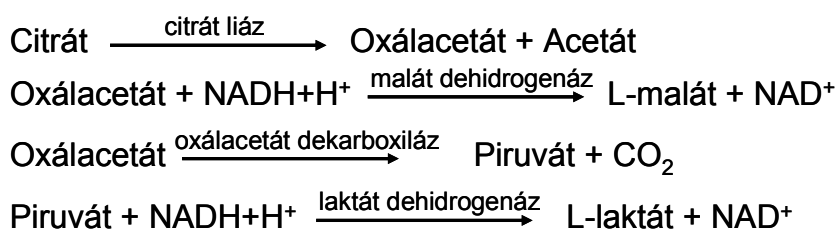
Az adszorptívumok egyensúlyi koncentrációját az adszorpciós sorozatok felülúszójában spektrofotometriás módszerrel határoztam meg a PAA, a CA és a Na-oleát esetében, a mérések az UVIKON 930-as UV-VIS kétsugaras spektrofotométer és az Ocean Optics Chem 2000 diódasoros spektrofotométeren történtek. A spektrumok felvételéhez minden esetben 1 cm-es kvarc küvettát használtam, 25°C hőmérsékleten. A spektrofotometria mennyiségi analitikai alkalmazása a Lambert-Beer törvényen alapul: A



$= \varepsilon l c$  (ahol  $A$  - abszorbanca,  $\varepsilon$  - moláris abszorbanca,  $l$  – kűvetta hossz,  $c$  - kromofőr koncentráció) [Pungor, 1993].

A minta előkészítés során gondosan ügyeltem a nanorészecskék eltávolítására, melyek jelenléte nagymértékben befolyásolja a fényelnyelést. A stabil mágneses folyadékok esetén a centrifugálás nem minden esetben volt elegendő, ezekben az esetekben 0,22  $\mu\text{m}$ -es szűrő használatára volt szükség. A kalibrációs egyenesek felvételekor mindkét esetben az egyenes illeszkedésére 0,99 fölötti értéket kaptam. A poliakrilsav esetén 223 nm-nél történt a detektálás, a kalibrációs sorozat koncentrációja 0-7 mmol/L között változott. A Na-oleátos minták alkalmával 230 nm-nél kaptam a csúcsmaximumot a spektrumokon, a kalibráló sorozat 0,1-2 mmol/L koncentrációjú volt.

Mivel a citromsav UV elnyelése 204 nm-nél található, mely közel esett a készülék alsó mérési határához és így bizonytalanná tette a meghatározást, ezért a citrát meghatározásakor Boehringer Mannheim féle enzimátikus meghatározást használtam (3.2.3.1.1. ábra).



3.2.3.1.1. ábra A citrát enzimátikus lebontásának egyenletei

A módszer citromsav oxálacetáttá és acetáttá történő bontásán alapul, mely a citrát liáz segítségével történik. Az oxálacetát ezt követően a malát dehidrogenáz és laktát dehidrogenáz enzim jelenlétében maláttá vagy piruváttá, piruvátból pedig laktáttá alakul 1-1  $\text{NADH} + \text{H}^+$  (redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid) felhasználásával. A  $\text{NADH} + \text{H}^+ / \text{NAD}^+$  átalakulás fotometriásan detektálható (340 nm-nél), koncentrációja arányos a jelenlévő citromsav/citrát koncentrációjával [Warty et al., 1984; Petrarulo et al., 1995; Kaušaitė et al., 2008].

A mérések összeállítása során gondosan ügyelni kellett a megfelelő sorrendre. Az 1-es pufferoldat 1 mL-ét, mely a malát dehidrogenázt, a laktát dehidrogenázt és a NADH-t tartalmazta, 0,2 mL megfelelően hígított felúlszóval és 1,8 mL ultra tiszta vízzel összekevertem kémcső keverő segítségével. 5 perces várakozási időt követően felvettem az abszorbanca spektrumát, majd a 2-es pufferoldat (mely a citrát liázt tartalmazta) 0,02 mL –es részletét hozzáadva újabb keverést követően 5 perc elteltével felvettem a

spektrumokat. A két spektrum közötti különbség mutatja meg a NADH fogyást, mely arányos a mintában lévő citrát koncentrációjával.

### 3.2.6. Atomspektroszkópia

Az induktív csatolású plazma (ICP) emissziós spektroszkópai mérésekre alkalmas. A minta gáz halmazállapotúvá tételéhez használjuk az ICP égőt. Magas energiaszinteken (0,5 - 3 kW) és 15-20 MHz frekvencián működik [*Metcalf, 1987*].

Az ICP segítségével határoztuk meg a citromsavval stabilizált mágneses folyadékok felülúszójának összes vasion tartalmát. A felülúszókat centrifugálás segítségével nyertük, hígításuk minden esetben a kalibrációs oldatsorozatnak megfelelően lett elkészítve. Ezáltal kiszámíthatóvá vált a vasionok mennyisége, melyet a citromsav kioldott a magnetit rácsból.

### 3.2.7. Gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR)

A molekulaszpektroszkópiában vizsgált színek úgy jön létre, hogy a molekula fotont nyel el vagy bocsát ki, és közben az energiája megváltozik [*Atkins, 1992*]. Az ATR-FTIR módszer elsősorban kvalitatív analitikai célokra szolgál. Egy külső infravörös sugárforrás fényét vezetjük át a mintán, majd egy detektor segítségével észleljük a fényintenzitást. A rezgési frekvenciák a molekulák, illetve atomcsoportok azonosítására egyértelműen alkalmas. Kétféle rezgést különböztetünk meg, a vegyértékrezgést (szimmetrikus vagy aszimmetrikus) és a deformációs rezgést (síkban történő-ollózó, kaszáló; síkra merőleges- bólogató; síkkal nem rendelkező-torziós rezgés). A deformációs sávok általában egy nagyságrenddel kisebbek, mint a vegyértékrezgéseké, így alacsonyabb frekvencia tartományban jelennek meg [*Burger, 1999*].

A gyengített totálreflexiós módszer lehetővé teszi a folyadék minták vizsgálatát, a „Golden Gate” feltét pedig a készülék érzékenységét növeli, illetve csökkenti a mérés mintaigényét.

Az ATR-FTIR spektrumokat Varian (Digilab) FTS-135 „Golden Gate” gyémánt és BioRAD (Digilab Division) FTS 65A/896 Harrick’s Meridian Split Pea Diamond ATR kristályon vettük fel  $4\text{ cm}^{-1}$  felbontás mellett. A „Golden Gate” esetében  $2\times 2\text{ mm}$  nagyságú gyémánt kristály egy wolfram-szén tartóba van forrasztva. A detektálás  $45^\circ$ -os beeső félynél és reflexiós módban történt [*Mihály et al., 2006*]. A Split Pea Diamond mérőfej pedig egy  $0,5\text{ mm}$  gömb alakú gyémánt kristályt tartalmaz, és DTGS detektort

alkalmaztunk a kísérletek során. Minden egyes minta esetén 256 párhuzamos mérést végeztünk, melyeknek átlaga a kapott spektrum. A minták spektrumából kivonásra került a tiszta gyémánt kristály és a telített vízgőz spektruma. A mérések megkezdése előtt 1 csepp vas-oxidos szuszpenziót cseppentettünk a kristály felületére, majd a spektrum felvételét követően a közeg elpárologtatása után egy újabb színekép került felvételre  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$  között.

### 3.2.8. Az elektrokinetikai potenciál és meghatározása

A töltéshordozó részecskék elmozdulásakor a részecskék körüli lokális elektrosztatikus tér deformálódik, az elektromos kettősréteg két része egymáshoz viszonyítva elmozdul. A töltést hordozó szilárd-folyadék határfelületet tartalmazó rendszerekben a részecske vagy a folyadék elmozdulásakor a felülethez tapadva marad a folyadékréteg egy része [Shaw, 1986; Hunter, 1988; 1989; Everett, 1988; Lyklema, 1995]. Az elmozdulás következtében a töltéshordozó határfelület elhasad. A hasadási sík és a folyadék belseje között fellépő potenciál különbséget elektrokinetikai potenciálnak, ill. zéta-potenciálnak nevezzük [Tombácz, 2003].

A hasadási sík tanulmányozható elektroforetikus mérésekkel is. Az egyenfeszültségű elektromos erőter hatására a töltéshordozó részecskék elmozdulnak a nyugalomba lévő folyadékhoz képest. Mérhető az elektroforetikus mobilitás  $u=v/E$ , ahol  $v$  a részecskék sebessége,  $E$  a potenciálesés.

Az elektroforetikus mobilitást Zetasizer NanoZS (Malvern) lézer mikroelektroforézis készülékkel mértem. A mérés autokorrelációs üzemmódban folyik, a műszer a sebesség cosinusos összetevőjét ábrázolja a frekvencia függvényében, majd Fourier-transzformáció segítségével jut el az elektroforetikus mobilitás meghatározásához alkalmas összefüggéshez.

Egyrészt a magnetit szuszpenzióhoz adott felületmódosító anyagok mennyiségének, másrészt pedig különböző minőségű és mennyiségű additív jelenlétében a pH változásának hatását vizsgáltam. Az első esetben állandó pH mellett dolgoztam (pH~6). Az ionerősség mindkét esetben 0,01 M volt, melyet NaCl segítségével állítottam be.

A mérések során törzsoldatot készítettem, melyből egységnyi térfogatot kivéve úgy egészítettem ki, hogy a végtérfogat minden esetben 20 ml legyen. A magnetit koncentrációja szintén minden esetben állandó volt (0,1 g vas-oxid/L). A pH értékeket a 3-10 közötti tartományban megfelelő hígítású HCl és NaOH oldatokkal állítottam be. A szuszpenziókat 1 órán át állni hagytam, hogy az adszorpciók egyensúly beálljon. A mérés

előtt minden alkalommal egy rövid ultrahangos kezelést alkalmaztam, majd 1 perc elteltével elindítottam a részecskeméret meghatározást és ezt követően ugyanabban a cellában (DTS 1060 - disposable zeta cell) mértem az elektroforetikus mobilitás értékét is.

### 3.2.9. Dinamikus fényszórás mérés (DLS)

Első közelítésben a módszer a törésmutató térbeli eloszlásában jelentkező ingadozásokat érzékeli a Fourier térben. Ezzel kapcsolatba hozható a térbeli skálán az idő, ami alatt egy részecske megteszi a  $h^{-1}$  távolságot. Ez szabad diffúziót végző részecskére  $(D_0 h^2)^{-1}$ , ahol  $D_0$  a translációs diffúziós állandó. Ez az idő a szórt fény autokorrelációs függvényének a lecsengési ideje [*Pecora, 1985*]. A méret analízis idején korrelációt keresünk egy szabadon diffundáló részecske két térbeli pozíciója között adott  $t$  és egy későbbi  $t+\tau$  időben. A késleltetési idő ( $\tau$ ) megegyezik azzal az idővel, amely két részecskének egymáshoz viszonyított olyan mértékű elmozdulásához szükséges, hogy a szórt fény relatív fázisa 0-ról  $\pi$  radiánra változzon. A késleltetési idő függ a szórásvektortól és a részecskék méretétől. A részecskék rendezetlen mozgása miatt a foton sokszorozó által megfigyelt kicsiny térrészben szórt fény intenzitása időben változik, fluktuál. A részecskék diffúziójából eredő fluktuáció nem korrelált, ha a megfigyelési idő a rendszer relaxációs idejénél hosszabb. Rövid analízisidők esetén az idő növekedésével csökken a korreláció.

A részecskék (egyedi vagy aggregált) méretét és eloszlását Zetasizer NanoZS (Malvern) dinamikus fényszórásmérő (DLS) készülékkel határoztam meg. A koagulálás kinetikai mérésekhez az időben elnyúló kísérletek miatt a Zetasizer 4 (Malvern) készüléket használtam. Mindkét műszer az adatgyűjtést illetve a feldolgozást a berendezés 64 csatornás korrelátor egysége folyamatosan végzi. Az alkalmazott fényforrás a NanoZS esetén 4 mW teljesítményű He-Ne lézer ( $\lambda=633$  nm), a szórt fény intenzitását foton sokszorozó méri a beütésszámok alapján. A szórt fény detektálása  $173^\circ$ -nál (back scattering) történik, ez teszi lehetővé, hogy a készüléket tömény rendszerek direkt mérésére is alkalmazhassuk. A mérési tartomány 0,6-6000 nm.

A Zetasizer 4 (Malvern) egy He-Ne ( $\lambda=633$  nm) 3,5 mW teljesítményű lézerrel rendelkezik. A detektálás  $60^\circ$  és  $140^\circ$  szög intervallumban, leggyakrabban  $90^\circ$ -nál történik, a készülék csak híg rendszerek mérésére alkalmas. Emellett a detektálható mérettartomány 3-3000 nm, ami jóval szűkebb, mint a NanoZS esetén.

A diffúziós állandóból a részecskeméretet automatikusan számolja a készülék a Stokes-Einstein összefüggés alapján:

$$R_o = \frac{kT}{6 \pi \eta D_o},$$

ahol  $R_o$  a részecske hidrodinamikai sugara,  $\eta$  a közeg viszkozitása,  $D_o$  a diffúziós állandó,  $T$  a hőmérséklet,  $k$  a Boltzmann állandó ( $1,38 \cdot 10^{-23}$  J/K).

A DLS-mérés során a diszperziós közegben szabad transzlációs diffúziós mozgást végző részecskék által szórt fény intenzitásának idő szerinti korrelációs függvényét mérjük. A mért adatok kiértékelése harmadrendű kumuláns analízissel, monomodal módon történt mindkét készülék alkalmával [*Tombácz et al., 2007*].

Az átlag részecskeméret meghatározásához ugyanazokat a szuszpenziókat használtam (0,1 g magnetit /L), melyeket az elektroforetikus mobilitás méréséhez.

A mágneses folyadékok sótűrését koagulálás kinetika vizsgálatokkal minősítettem a Zetasizer 4 (Malvern) készülékkel és vizsgáltam, hogy mekkora mennyiségű elektrolit mellett képes megtartani a stabilitását a hígított mágneses folyadék. Mindegyik felületmódosító ágens esetén úgy állítottam össze a törzsoldatot, hogy a magnetit koncentrációja minden esetben 5 mg/L legyen. A mérés alatt az oldatok pH=7-ra voltak beállítva. Az elkészített törzsoldatot 10 percig ultrahangoztam és 50 percig hagytam állni, hogy az adszorpció lejátszódhasson. A törzsoldatból minden mérés előtt 2 ml kivéve 4 ml-re egészítettem ki úgy, hogy az 1 M NaCl oldat segítségével a kívánt koncentráció értéket kapjam az elektrolitra nézve. A mérés előtt a mintákat ultrahangoztam és 2 percen keresztül mértem 10 másodpercenként a részecskeméretet.

A stabilitási hányados (W) kiszámításához a gyors és lassú koaguláció kinetikai görbéinek a kezdeti meredekségét használtuk (2.6. fejezet). A gyors és a lassú koaguláláshoz tartozó egyenesek meredekségének hányadosából számoltuk a stabilitási hányadosok értékét. Ha az elektrolit koncentráció 10-es alapú logaritmusát ábrázoljuk a stabilitási hányados logaritmusának függvényében, akkor meghatározhatjuk a kritikus koaguláltató koncentráció (c.c.c.) értékét [*Illés & Tombácz, 2003; Schudel et al., 1997; Hajdú et al., 2008*].

### 3.2.10. HeLa sejtes kísérletek

A citotoxikus hatás vizsgálata humán sejtvonalon történt (HeLa-méhnyakrák adeno-karcinóma) MTT teszt segítségével. A sejtek a tesztelt anyagok jelenlétében azok citosztatikus hatásának függvényében proliferálnak [*Mosmann, 1983; Gupta & Curtis*

2004]. A módszer a sejttenyészetekben az élő sejtek számának meghatározását teszi lehetővé.

A sejtek tenyésztése 37 °C-on, 5% CO<sub>2</sub> és magas páratartalom mellett történt. A negatív kontroll nem tartalmazott MF-t, csak a tenyésztőmédiumot, ami 10%-os magzati szarvasmarha (fetal bovine) szérum oldat és 1% antibiotikum / antimycoticum oldat keveréke. A daganatos sejteket 5000 sejt/ lyuk sejtszámmal 96-lyukú sejttenyésztő edénybe helyeztük, majd egy éjszakás inkubációs periódust alkalmaztunk. Második nap az eredeti közeg eltávolítását követően 200 µL nanorészecskéket tartalmazó szuszpenziókat három hígításban alkalmaztunk ( $2,52 \times 10^{13}$ ;  $2,52 \times 10^{14}$ ;  $2,52 \times 10^{15}$  részecske/L). Az újabb inkubációs periódus (72 óra) után egy intakt mitokondriális reduktáz enzim által katalizált színreakció segítségével fotometriásan határozzuk meg az élő sejtek mennyiségét. Az élő sejtek meghatározására 20 µL, 5g/L koncentrációjú MTT oldatot ([3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid]) adtunk a sejtsuszpenziókhoz. A tetrazólium sóit csak a mitokondriumban képes átalakítani az élő sejt, mely kék színű kristályként válik ki 4 órás kontaktidő elteltével. A közeg eltávolítását követően a csapadékot 100 µL dimetil szulfoxidban (DMSO) oldottuk 60 perces rázatás során. Végül 545 nm-en fotometriásan detektáljuk a színváltozást, kontrollként kezeletlen sejteket alkalmazva [Réthy et al., 2007].

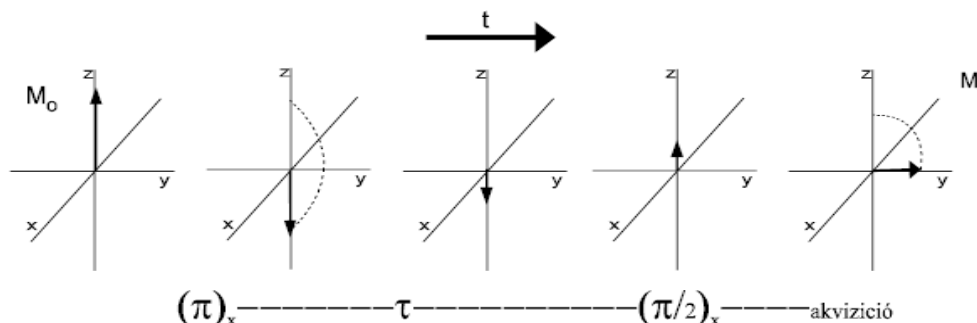
A fényképek készítése az MTT teszt elvégzése előtt történt.

### **3.2.11. Mágneses rezonancia képalkotás (MRI) és proton-mágneses rezonancia (<sup>1</sup>H-NMR)**

A módszer a mágneses atommag és a külső mágneses tér közötti kölcsönhatáson alapul, elsősorban minőségi információ nyerhető a segítségével, de mennyiségi információt is szolgáltat. Ha egy mágneses magot mágneses mezőbe helyezünk, az a megengedett kissetű, különböző energiájú orientációk egyikébe kerül. Az állandó mágneses tér hatása, hogy nemcsak irányba állnak a protonok, hanem egy forgó mozgást is végeznek egy kúp palástja mentén.

A mérés során egy állandó mágneses teret alkalmazunk és egy rádiófrekvenciás impulzus segítségével váltakozó feszültséget kapcsolva a mérőfejben lévő tekercsre változó mágneses mező lép fel a mintában [Hore, 2004]. Az impulzus szekvencia különböző rádiófrekvenciás és gradiens impulzusok sorozata, amely egy, a MR jel keltésére szolgál [Babos, 2006]. Rezonancia csak akkor jön létre a mágneses magban, ha megfelelően gerjeszti az alkalmazott rádiófrekvenciás jel. Ezért fontos, hogy a Larmor precesszióknak megfelelő frekvenciát alkalmazzuk.

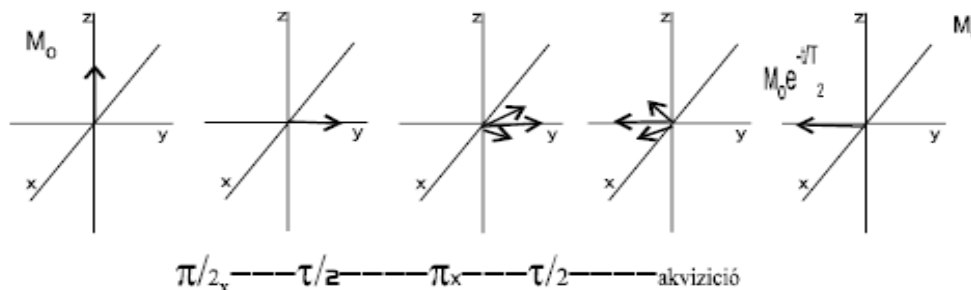
A méréseink alatt mind az MRI, mind a  $H^1$ -NMR esetén a mágneses nanorészecskéknek a víz T1 (longitudinális) és T2 (transzverzális) relaxációjára gyakorolt hatását vizsgáltuk.



**3.2.10.1. ábra** A T1 mérésére szolgáló "átfordításvisszatérés (inversion-recovery)" módszert leíró ábrásor.

A legáltalánosabban alkalmazott eljárás a T1 relaxáció mérésére az ún. "átfordításvisszatérés (inversion-recovery)" nevű technika, melynek vázlatos ábrája a 3.2.10.1. ábrán látható. A szekvencia egy 180 fokos impulzussal indul, amely átfordítja az a mágneses vektort (felcseréli a szintek betöltöttségét). Ezt követi egy változó  $\tau$  időtartam után egy "beolvasó" 90 fokos impulzus. A  $\tau$  függvényében változik a kapott mágneseszettség értéke. A 90 fokos impulzus után történik a mérés (akvizíció) [Szalontai, 2003].

A spin-echo (SE) mérés a T2 relaxációs idők meghatározására szolgál (3.2.10.2. ábra), szekvencia egy ún. 90 fokos, gerjesztő rádiófrekvenciás impulzussal kezdődik, majd a protonok reszinkronizációját egy 180 fokos rádiófrekvenciás impulzus végzi. A jel a gerjesztés után, az ún. echo idő (TE- a jel mérésének ideje, azaz az első radiofrekvenciás impulzus és az echo közepe közti idő) elteltével jelenik meg [Stark et al., 1999].



**3.2.10.2. ábra** A spin-echo jelenséget leíró módszer ábrásora.

A szekvenciában egy 90-es és egy 180-as impulzus követi egymást  $\tau$  időközzel, majd egy újabb  $\tau$  várakozási idő után következik a jel mérése. Az első impulzus után az x-



y síkban megkezdődik a vektorok szétterülése eltérő sebességüknek megfelelően. Ebben a pillanatban a 180-as impulzus átfordítja az x tengely körül az összes vektort. Feltételezve, hogy közben a sebességük nem változik, ismét  $\tau$  idő eltelte után (amikor a detektálás elkezdődik) visszaáll az eredeti fáziskohérenca a vektorok között, igaz, hogy most a -y tengely mentén, ami negatív fázisú jelet eredményez [Szalontai, 2003].



**3.2.10.3. ábra A mágneses folyadékok kísérleti elrendezésének képe az MRI készülékben.**

A mágneses folyadékok vízre gyakorolt hatását vas atomra számítva 0,1-10 mg/L-es koncentráció mellett állandó pH-n és hőmérsékleten vizsgáltam.

Az MRI mérések az Euromedics Diagnostics Szeged Kft. 1,5 T GE Excite HD klinikai MRI készülékén végeztem el (2.2.1.1. ábra). A vizsgálatokhoz 20 mL szuszpenzióra volt szükség, melyeket egy vízzel feltöltött műanyag dobozban helyeztünk el. A kísérleti elrendezés az MRI készülékben a 3.2.10.3. ábrán látható képként jelent meg. A  $H^1$ -NMR méréseket pedig a 0,47 T Bruker MiniSpec Mq 20 (3.2.10.4. ábra bal oldali kép) és a 9,4 T Bruker DRX 400 (3.2.10.5. ábra jobb oldali kép) készüléken végeztem a Debreceni Tudomány Egyetemen. Az első esetben 0,4 a másodikban 0.5 mL szuszpenziót a megfelelő mintatartóban elhelyezve vizsgáltunk. Minden esetben azonos szuszpenziók lettek lemérve a három különböző készüléken.



**3.2.10.4. ábra A Bruker MiniSpec Mq 20-as (bal oldal) és a Bruker DRX 400-es készülék (jobb oldal) fényképe.**

A  $H^1$ -NMR mérések során a  $T_1$  relaxációs idők kiszámolása a következő egyenlet alapján történt:

$$I = (I_0 - I_\infty) e^{-(1/T_1)VD} - I_\infty ,$$



ahol  $I$  a longitudinális mágnesszettség,  $I_0$  a longitudinális mágnesszettség a  $t = 0$  időpontban,  $I_\infty$  a longitudinális mágnesszettség a  $t = \infty$  időpontban,  $VD$  a  $180^\circ$  és a  $90^\circ$ -os forgatás között eltelt idő (repetíciós idő).

A  $T_2$  relaxációs idők kiszámolásához a  $H^1$ -NMR mérések esetén a következő egyenletet alkalmaztuk:

$$I = I_0 e^{-(2d20/T2)c}$$

ahol  $I$  a transzverzális mágnesszettség az aktuális állapotban,  $I_0$  a transzverzális mágnesszettség  $t=0$  időpontban a  $90$  fokos gerjesztés után, a  $d20$  a mérés során alkalmazott echo idők (8, 4, 2 ms),  $c$  a fentebb leírt  $\pi$  impulzusok száma.

A mért relaxációs idők reciprokát ábrázolva a minták vaskoncentrációjának függvényében határozható meg a relaxivitas ( $r_1$ ,  $r_2$ ), mely koncentrációtól független, csak az anyagi minőségre jellemző paraméter.

Az MRI készülék használatakor a  $T_1$ -es és  $T_2$ -es méréseket leíró egyenletek esetén nem tudjuk ugyanazokat használni, mint a  $H^1$ -NMR vizsgálatokkor, ugyanis az MRI alapvetően képalkotásra alkalmazható speciális berendezés, így a mérési körülmények jellemzése is másképp történik. Az MR felvételen a téglék metszeti képének a jelintenzitását ROI (region-of-interest = érdeklődési terület) technikával mértük és ebből származtattuk a  $T_1$  és  $T_2$  relaxációkat. A  $T_1$  értékek leolvasásakor az adatokat abszolút értékben kaptuk meg, így az illesztés alkalmával a kapott görbék jellegzetes alakot vettek fel. Azonban a különböző készülékeken mért relaxációk, illetve a relaxivitas ( $r_1$ ,  $r_2$ ) értékek összehasonlíthatóak minden esetben [Hore, 2004].

A  $T_1$ -es mérések folyamán a számoláshoz használt egyenlet a következő:

$$I = I_0 (1 - f e^{-TI/T1})$$

ahol  $I$  a longitudinális mágnesszettség,  $I_0$  a longitudinális mágnesszettség a  $t = 0$  időpontban,  $TI$  az alkalmazott inverziós idő, mely rendre 50, 100, 200, 400, 800, 1400, 2200, 3600 ms között változtak,  $f$  pedig egy konstans, a repetíciós idő (szekvencia ismétlési ideje) 4000 ms az echo idő (a jel mérésének ideje) pedig 9 ms volt.

A  $T_2$ -es méréseknél egyszerűsödik a képlet a  $H^1$ -NMR mérésekhez képest:

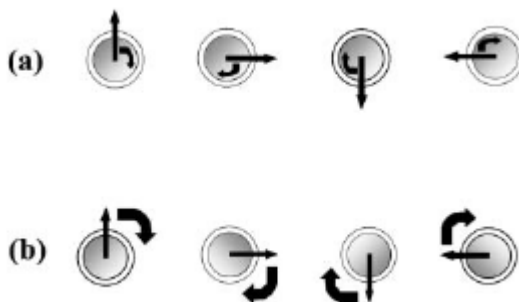
$$I = I_0 e^{-TE/T2}$$

ahol  $I$  a transzverzális mágnesszettség az aktuális állapotban,  $I_0$  a transzverzális mágnesszettség  $t=0$  időpontban amit  $T_2$  időállandóval ér el a rendszer,  $TE$  az echóidő mely

10, 20, 30, 40, 60, 120, 180, 240 ms között változott. A  $H^1$ -NMR-ben választott mérési körülmények minden esetben az MRI-s mérésekhez igazodtak. A kapott értékek illesztése 0,99 volt és a szórása az MRI-s mérések esetén 3 % körüli érték, a  $H^1$ -NMR-nél azonban 1 %-nál kisebbnek adódott.

### 3.2.12. Mágneses hipertermia

Váltakozó mágneses térbe helyezve a mágneses nanorészecskéket a relaxáció kétféle úton valósulhat meg: vagy a részecske mágneses momentuma fordul el a tér irányába a részecskén belül, vagy az egész részecske fordul el (3.2.12.1. ábra).



3.2.12.1. ábra a) Néel rotáció (a részecske nem mozdul), b) Brown rotáció (a részecske a momentummal együtt elfordul) [Mornet et al., 2004].

Ez a két folyamat, mely a hőmérséklet emelkedéséért felelős, a Néel és a Brown relaxáció [Bahadur & Giri, 2003; Mornet et al., 2004; Zhang et al., 2007]. Az első esetben az energia először a kristály rácsban nyelődik el, az utóbbi esetben közvetlenül a folyadékokban [Châtel et al., 2009]. A melegítés hatásfokát nagymértékben befolyásolja a részecskék mérete, alakja és aggregáltsági állapota [Bahadur & Giri, 2003].

Az adott mágneses folyadék hőtermelését az SAR (specific absorpion rate = fajlagos abszorpció mérték) értékkel szokták jellemezni, melynek a kalkulálása a következő egyenlet alapján történik:

$$SAR = \frac{C_{\text{víz}} m_{\text{minta}}}{m_{\text{magnetit}}} \left[ \frac{\Delta T}{\Delta t} \right],$$

ahol  $C_{\text{víz}}$  a víz hőkapacitása (4,186 J/gK), a magnetit hőkapacitását a híg rendszerek miatt elhanyagolhatjuk,  $m_{\text{magnetit}}$  a mintában lévő magnetit mennyisége,  $m_{\text{minta}}$  a bemért minta tömege,  $(\Delta T / \Delta t)$  pedig a hőmérséklet vs. idő függvény kezdeti meredeksége az [Skumiel et al., 2007; Motoyama et al., 2008].

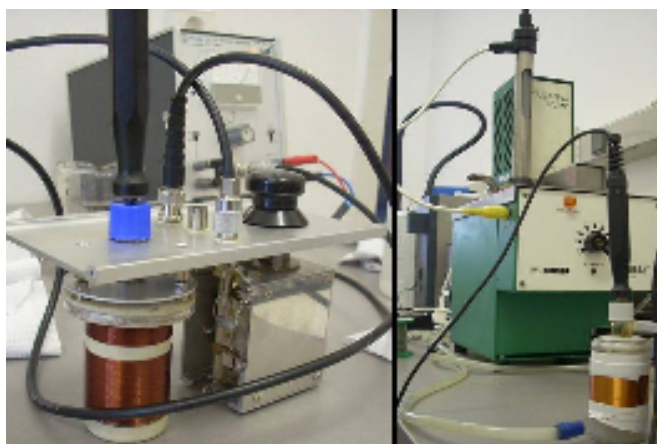
A váltakozó mágneses teret gerjesztő készülék egy házilag összeállított berendezés, melyet a Pannon Egyetem Fizikai Intézetében készítettek el számunkra. A készülék

felépítése, ami egy oszcilloszkópból (CS-4128, 20MHz), egy generátorból (EMG 12564, Type TR-0458), egy erősítőről (Philips, PM5175) és a tekercsből áll a 3.2.12.2. ábrán látható. A tekercs belsejében egy üvegcsőben helyeztük el a mintát.



**3.2.12.2. ábra A mágneses hipertermiás készülék.**

A méréseket két frekvencián és két különböző menetszámú tekercs mellett mértük le. Az első esetben a mágneses térerősség  $H=3,3$  kA/m volt, a frekvencia pedig 1 MHz (3.2.12.3. ábra bal oldali kép). A második esetben  $H=2,1$  kA/m volt, a frekvencia pedig 800 kHz. Ez utóbbi összeállításnál egy átfolyósos vízűtést is alkalmaztunk, hogy a tekercs melegedésének zavaró hatását kiküszöböljük (3.2.12.3. ábra jobb oldali kép). A hőmérséklet követésére egy digitális hőmérőt alkalmaztunk (GTH 175/MOP, Germany). A mérések során a gerjesztett mágneses mező kb. 4 mT volt. A mintákból minden esetben 4 mL szuszpenzió került a mintatartóba, melyet a tekercsek közepén található légrésbe helyeztünk.



**3.2.12.3. ábra Bal oldalon a hűtés nélküli 1 MHz frekvenciás mérésnél használt mintatartó, jobb oldalon a vízűtessel rendelkező 800 kHz-nél alkalmazott mintatartó.**

## 4. Kísérleti eredmények és értékelésük

Az orvos-biológiai felhasználására alkalmas mágneses folyadék fejlesztésével foglalkozó csoport kutatásaihoz kapcsolódó munkám során a magnetit nanorészecskéket felületi komplexképződéssel, de három lényegileg eltérő módon stabilizáló vegyülettel – a főleg elektrosztatikusan ható citromsavval, a kombinált elektrosztatikus és sztérikus hatású poliakrilsavval és az amfifil molekulák orientált kettősrétegével védő Na-oleáttal – dolgoztam, ezek adszorpcióját vizsgáltam a magnetit felületén és az adszorpció hatására megváltozott tulajdonságaik kimutatását végeztem.

A cél mindegyik esetben a magnetit részecskék védőréteggel való beburkolásával stabil mágneses folyadék előállítása volt, mely a fiziológias körülmények között is megtartja kolloid stabilitását, és felhasználásuk feltehetőleg az orvos-biológiai alkalmazás más-más területét fogja érinteni.

### 4.1. Magnetit nanorészecskék jellemzése

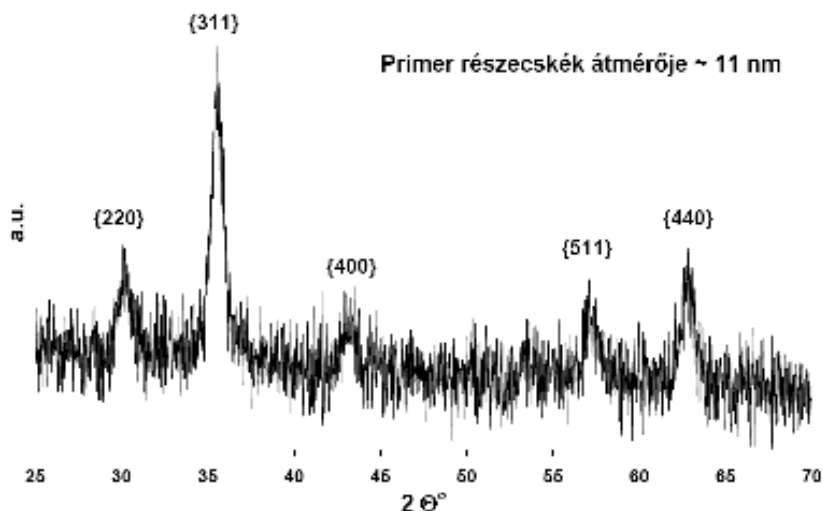
A koprecipitációval előállított magnetit nanorészecskék rutin jellemzését minden alkalommal elvégeztem (XRD, TEM, DLS (részecskeméret, elektroforetikus mobilitás), ATR FTIR), szem előtt tartva a reprodukálhatóságot, mely egy igen fontos paraméter a jövőbeni orvos-biológiai felhasználás esetén.

#### 4.1.1. A magnetit nanorészecskék jellemzése (XRD, TEM, DLS (részecskeméret, elektroforetikus mobilitás), ATR-FTIR)

A fagyasztva szárítással készített pormintán végzett röntgen diffrakciós vizsgálatok folyamán a diffraktogrammon kapott csúcsokat a JCPDS kártyák segítségével azonosítottam.

A magnetitre jellemző csúcsok  $31.8^\circ$ ,  $35.6^\circ$ ,  $42.3^\circ$ ,  $57.4^\circ$ ,  $63.1^\circ$   $2\theta$  szögeknél megtalálhatóak a diffraktogramon (4.1.1.1. ábra) [Tombácz *et al.*, 2007; Tombácz *et al.*, 2009]. Az adatbázis segítségével azonosított Miller (hkl) indexeket jelöltem az 5 legnagyobb intenzitású csúcs esetén, melyekhez a (220), (311), (400), (511), (440) hkl indexek tartoznak. A röntgen diffraktogramon a  $35,6^\circ$   $2\theta$  -nál található magnetit csúcs (311) vonalkiszéledése alapján a Scherrer-összefüggés segítségével meghatároztam a nanokristályok részecskeméretet, mivel az XRD csak a kristályos fázisról informál, a részecskék összetapadása, aggregációja ezzel a módszerrel nem jellemezhető. Az előállított magnetitre jellemzően 10-12 nm közötti méretet határoztam meg a Scherrer egyenlet

alapján, mely igen jó egyezést mutat az irodalmi adatokkal [Sun et al., 1998; Goodarzi et al., 2004].

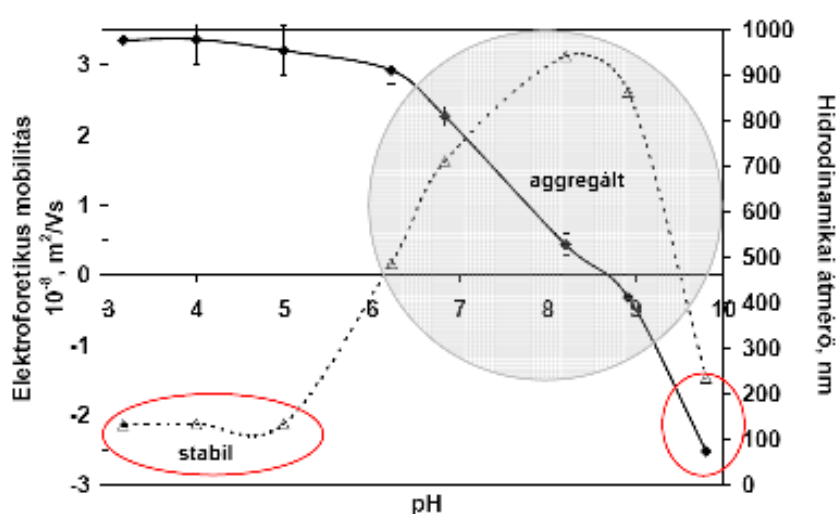


4.1.1.1. ábra Magnetit nanorészecskék röntgen diffraktogramja.

Az előállított magnetit nanorészecskék TEM felvételei közül egyet példaként a I. Függelék 1. ábráján mutatok be. A felvételeken látható, hogy a magnetit nanorészecskék gömb alakúak, méretük nem egységes (polidiszperz) és erőteljes az aggregációjuk. Ez utóbbi lehet a minták TEM felvételre való előkészítésének következménye is. A TEM képek alapján a részecskék méreteloszlását is meghatározom, a részecskeméret eloszlás maximuma általában a 4-5 nm-s intervallumban volt. Ez az érték lényegesen kisebb (~fele), mint a röntgendiffraktogram alapján meghatározott átlagos méret. Az irodalomban található adatok igen nagy szórást mutatnak mind a méret, mind a részecskék alakja szempontjából is [Sun et al., 1998; 2004; Butter, 2003; Ge et al., 2007; Bica et al., 2007; Feng et al., 2009; Gotič et al., 2009], így az általunk meghatározott értékekre is találunk irodalmi példát [Sun et al., 1998; 2004; Goodarzi et al., 2004; Bica et al., 2007; Liu et al., 2007]. Ennek oka, hogy az XRD a teljes kristályos fázisról, a TEM pedig a szubjekíven válogatott részecskékről ad információt.

A magnetit felületi töltése a pH változásával jelentősen változik és így a nanorészecskék töltésállapota is jellemző pH-függést mutat, ami kísérletileg a zéta-potenciál, ill. elektroforézis méréssel az elektroforetikus mobilitás értékek változásával követhető [Tombácz, 2003]. Az elektroforetikus mobilitás pH-függését a 4.1.1.2. ábrán láthatjuk, ahol a magnetit részecskék töltése előjelet vált ~8,5 pH-nál, ami a magnetit i.e.p. értékével azonosítható. A szintetikus magnetit mintákra általában különféle módszereket alkalmazva pH~7 és ~9 közé eső értékeket adnak meg az oxid i.e.p. pontjaként [Cornell &

[Schwertmann, 1996; Fauconnier et al., 1999]. Az ábrán a részecskeméret pH függését is ábrázoltam, jól látható, hogy az alacsonyabb pH értékek mellett kicsi, ~100 nm körüli átmérőjűek a részecskék összhangban a nagy pozitív elektroforetikus mobilitás értékekkel. Ahogy csökken az elektroforetikus mobilitás értéke, halad a töltés nélküli állapot felé, majd vált át negatív tartományba, úgy nő a részecskék mérete is. Majd a pH=7-10 közötti tartományban igen nagy részecskeméreteket mérhetők, a reprodukálhatóság feltűnően rossz, mely az aggregátumok időbeli kialakulására utal. Ezek az egyszerű kísérleti tények is mutatják, hogy a csupán pH-függő töltésével stabilizált magnetit fiziológias pH mellett kolloidálisan nem stabil.

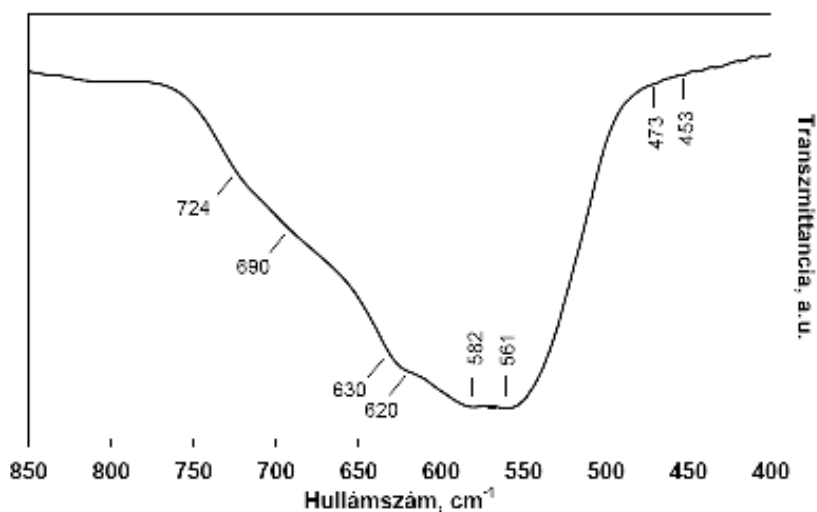


**4.1.1.2. ábra** A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának, és az átlagos részecskeméretének pH függése, 0,01 mol/L NaCl jelenlétében.

Fiziológias körülmények esetén a pH mellett a másik fontos tényező az élő rendszerekben uralkodó nagy sókoncentráció. Koagulálás kinetikai vizsgálatokkal jellemeztem a magnetit só-tűrését. Azt tapasztaljuk, hogy pH 6,4 alatt már 30 mmol/L NaCl jelenlétében aggregál (I. Függelék 2. ábra), 7-es pH mellett pedig ~ 1 mmol/L só elegendő a stabilitás megszűnéséhez [Tombácz et al., 2007]. Megállapítható, hogy noha pH < 6 tartományban a részecskéken kialakult töltések stabilizálják a magnetit szolt, ez az elektrosztatikus taszítás nem elegendő a van der Waals és a mágneses vonzó kölcsönhatások kompenzálásához.

A magnetit nanorészecskék ATR FTIR spektrumát a 4.1.1.3. ábrán mutatom be. Látható a magnetitre jellemző széles csúcs megjelenése 580 cm<sup>-1</sup>-nél [Cornell & Schwertmann, 2003; Mürbe et al., 2008]. A szintetikus magnetit nanorészecskék mintáiban általában jelen van a maghemit is. A magnetit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) és a maghemit (γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) a vas oxidációs állapotában tér el egymástól. A maghemit nem tartalmaz Fe(II)-t, azonban a

kristályrácsban a vas(II) helyeken kation vakanciák jelennek meg. A felületi töltésállapotuk, fajlagos felületük, részecskeméretük közel azonos, minimális eltérés a mágneses tulajdonságaikban tapasztalható [Cornell & Schwertmann, 2003]. Gotić és munkatársai [Gotić et al., 2009] mikroméretű magnetit részecskék maghemitté alakulását vizsgálták. Az általuk előállított, nem sztöchiometrikus magnetit részecskék spektrumán egy intenzív csúcs jelent meg  $586\text{ cm}^{-1}$ , kis csúcsok  $473$  és  $453\text{ cm}^{-1}$ -nél és  $724$ ,  $690$ ,  $630\text{ cm}^{-1}$  esetén pedig vállak voltak megfigyelhetők a spektrumokon. A 4.1.1.3. ábrán bemutatott spektrumon felismerhetők a vállak és a csúcsok is, azonban a legintenzívebb csúcs  $582$  és  $561\text{ cm}^{-1}$ -nél jelent meg. Az előbbi csúcs az Fe-O nyújtó rezgéseknek felelnek meg. A maghemit IR csúcsait meghatározva [Cornell & Schwertmann, 2003; Gotić et al., 2009] azt találták, hogy a legkarakterisztikusabb csúcsok a  $700$ ,  $660$ - $640$ ,  $620$ ,  $580$ ,  $560$ ,  $460$ ,  $430\text{ cm}^{-1}$ -nél jelentek meg. Az általam szintetizált magnetit mintában ezek a csúcsok nem jelentek meg, kivéve a  $582$  és  $561\text{ cm}^{-1}$ -nél jelentkezőket, és egy kicsi csúcsot  $620\text{ cm}^{-1}$ -nél. Gotić csoportja szerint a sztöchiometrikus magnetit esetén csak egyetlen éles csúcs jelenik meg  $582\text{ cm}^{-1}$ -nél [Gotić et al., 2009], szemben Cornell munkájával [Cornell & Schwertmann, 2003]. A kapott eredmény alapján valószínűsíthetjük, hogy az általam szintetizált magnetit nem sztöchiometrikus, kation vakanciák jelentek meg a kristályban, mely a spektrum torzulását okozta, tehát részben megindult a magnetit maghemitté alakulása.



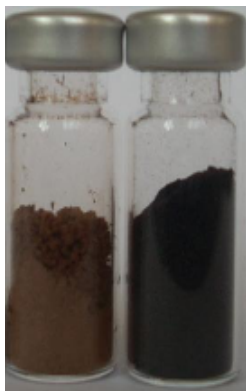
4.1.1.4. ábra Egy szintetikus magnetit minta ATR-FTIR spektruma.



#### 4.1.2. A magnetit nanorészecskék mágneses jellemzése (VSM, Mössbauer spektroszkópia)

A magnetit esetében a két- és háromértékű vasionok jelenléte okozza a mágneses tulajdonságok kialakulását, melyet a mágneses momentummal jellemezhetünk. Mágneses nanorészecskék változatos térbeli elrendeződésű csoportjainak kollektív mágnességét többféle, egymással versengő hatás egyensúlya eredményezi. A részecskeméret, kristályszerkezet, morfológia, a részecskék közötti távolság, valamint külső tényezők (mint pl. a hőmérséklet) mind szerepet játszanak a mágneses tulajdonságok kialakításában. A magnetit szuperparamágneses tulajdonságát a hiszterézis nélküli magnetizációs görbékkel bizonyítják.

A szintetizált magnetit részecskék mágneses jellemzőit VSM mérésekkel határoztuk meg. Az I. Függelék 3. ábráján látható, hogy az egyik minta a telítésbe futó magnetizációs görbéjén a maximális érték 74,1 emu/g értéknél található. Ez az érték jó egyezést mutatott az irodalmi adatokkal ( $\sim 73$  emu/g [[Mürbe et al., 2008](#)]), habár ezek igen széles tartományt ölelnek fel (65.3 emu/g [[Feng et al. 2009](#)]; 93-73 emu/g [[Mürbe et al., 2008](#)]; 64.3 emu/g [[Wu et al., 2006](#)]). Érdekes, hogy az azonos, csak a pH-jukban különböző minták magnetizációs görbéi nagymértékben eltértek. Erre jelenleg magyarázatot nem találtunk. A különböző pH-jú ( $\sim 3$  és  $\sim 7$ ) minták között eltérés egyedül az aggregáció fokában volt, mellyel nem indokolható a mágneses tulajdonságok ilyen mértékű eltérése a jelenlegi elméletek szerint. A mágneses szuszceptibilitás a jelenlévő mágneses anyag minőségétől függ, a részecskeméret csak a nanométeres tartományban érzeteti hatását azáltal, hogy a részecskék felület közeli rétege  $\sim 1$  nm vastagságban nem mágneses, így minél kisebbek a részecskék annál nagyobb ennek a mágneses szempontból nem aktiv "halott" rétegnek a hozzájárulása [[Odenbach, 2002](#)]. A mágneses



4.1.2.1. ábra  
Liofilizált magnetit  
porminták.

tulajdonságoknak az adott méretű részecskék aggregációjával való változásról viszont eddig sem elméleti, sem kísérleti evidenciát nem közöltek az irodalomban.

A minták mágnesezettségi görbéinek változását időben is követtük, azonban 6 hónappal az előállítás követően sem történt változás a görbékben a csupasz magnetit, illetve az aggregált minta esetében.

A magnetit aerób körülmények között kémiaiailag nem stabil, oxidálódik, eltérő sebességgel maghemitté alakul, mely por minták

esetén már szemmel látható színváltozás formájában is megjelenik. A N<sub>2</sub> atmoszféra alatt készült, tárolt és fagyasztva szárított mintáknál a magnetit színe fekete, mely a levegő oxigénjével érintkezve eltűnik és az egész minta a maghemit barna színét mutatja (4.1.2.1. ábra).

A magnetit-maghemit átalakulást Mössbauer spektroszkópiával vizsgáltuk. Az irodalomban jól ismert [*da Costa et al., 1994; Cornell & Schwertmann, 1996*], hogy 4 K hőmérsékleten a maghemit Mössbauer spektrumán (I. Függelék, 4. ábra) két, a Fe<sup>2+</sup>- és Fe<sup>3+</sup>-ionokhoz rendelhető mágneses sextett jelenik meg. Az izomer eltolódás kisebb mértékű eltolódást okoz, mint a kvadropólus felhasadás (0,12 mm/s), mely a Fe<sup>3+</sup>-ra jellemző oktaéderes és tetraéderes elrendeződésre utal (0,33 mm/s). A minta a spektrum alapján nem tartalmazott Fe<sup>2+</sup> atomokat. A N<sub>2</sub> atmoszféra alatt előkészített minta esetén viszont már a magnetitre jellemző spektrumot kaptuk (I. Függelék, 5. ábra) [*Szabó et al., 2000; Pardoe et al., 2001; Gotić et al., 2009*].

A szobahőmérsékleten mért spektrumok (I. Függelék, 6-7. ábra) eltérése még szembetűnőbb. Ezek a spektrumok is tartalmazzák a vasionokra jellemző szextett felhasadást és ebben az esetben is a levegőn előállított minta maghemitként azonosítható.

A Mössbauer mérések egyértelműen azt bizonyítják, hogy ha nem teszünk semmit a magnetit oxidációtól történő megóvása érdekében az spontán maghemitté alakul. Fontos megjegyezni, hogy a minta oxidációs állapotát saját közegében nem tudjuk vizsgálni, por formában viszont a levegővel érintkezve az átalakulási folyamat felgyorsul. Egyes elméletek azt taglalják, hogy a magnetit felületén egy vékony maghemit réteg alakul ki, mely megvédi a magnetitet a további oxidációtól, ez azonban méréseink alapján kétséges, valószínűbb a rozsdával analóg viselkedés, az sem képes a vas tárgyakat passzíválni [*Cornell & Schwertmann, 1996*].

## 4.2. Stabilizáló ágensek adszorpciója magnetit felületén

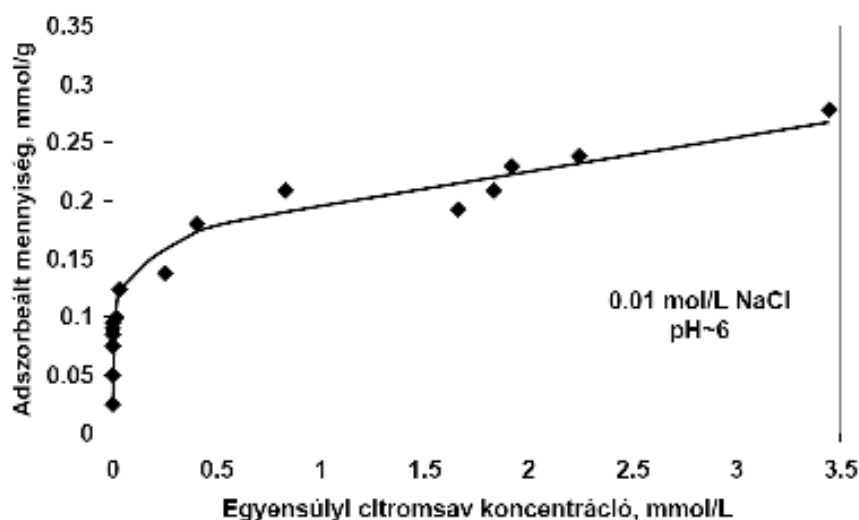
A citrát, a poliakrilát és az oleát adszorpcióját vizsgáltam a semlegeshez közeli pH-kon. Mindhárom vegyület rendelkezik karboxil csoporttal, amely kemisorbeálódhat a magnetit ≡Fe-OH helyein. A felületen való megkötődés mellett szabadon maradt funkcióscsoportok minden esetben negatívan töltött magnetit nanorészecskét eredményeznek.

### 4.2.1. A citrát adszorpció hatása

Tekintettel a magnetit részecskék közötti mágneses dipólus vonzó kölcsönhatásra, a részecskék aggregálódnak és a kolloid diszperzió spontán destabilizálódik. Ennek

megelőzésére az irodalomban elterjedten alkalmaznak citromsavat, hogy stabilizálja a mágneses részecskék vizes szuszpenzióját azáltal, hogy nagy mennyiségű töltéshordozó funkciós csoporttal borítja a felületet. A szisztematikus adszorpciós vizsgálatok azonban mindeztidáig hiányoznak az irodalomból. Általában nagy mennyiségű citromsav hozzáadásával stabilizálják a magnetit-maghemit részecskéket, empirikus kísérleti adatokra, tapasztalatokra hivatkozva [Kallay & Matijević, 1985; Weissleder et al., 1989, 1990; Bee et al., 1995; Goodarzi et al., 2004; Sahoo et al., 2005; Răcuciu et al., 2006; Wilhelm & Gazeau, 2008; Munnier et al., 2008].

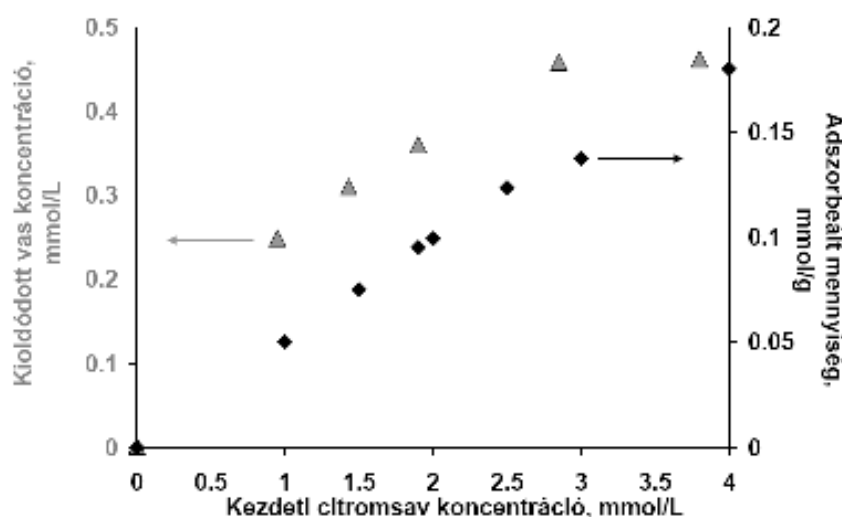
A citromsavat az adszorpciós sorozatokban (II. Függelék 1. ábra) kellően nagy koncentrációban alkalmazva stabil mágneses folyadékot kapunk. A II. Függelék 1. ábráján jól látható, hogy az első üvegcsében lévő csak magnetitet tartalmazó szuszpenzió teljesen kiülepedett (p.z.c. közeli pH lásd. 4.1.1. fejezetet), míg ugyanazon körülmények között citromsavat is tartalmazó minták homogén térbeli eloszlású szuszpenziót képeznek, amennyiben elérték a teljes borítottsághoz tartozó koncentrációt. Az egyensúlyi koncentrációt a 3.2.4. fejezetben leírtak szerint meghatározva a megadott képlettel számítottam ki a fajlagos adszorbeált mennyiségeket ( $n^o$ ) az adszorpciós izoterma megszerkesztéséhez. A 4.2.1.1. ábrán látható a citromsav adszorpciós izotermája magnetiten.



4.2.1.1. ábra A citromsav adszorpciója a magnetit nanorészecskék felületén, pH~6 és 0,01 mol/L NaCl koncentráció mellett.

Szembetűnő, hogy az adszorpciós izoterma nem ér el telítési értéket, ami a valószínűsített ligandumcsere [Kallay & Matijević, 1985] miatt a felületi vegyület véges számú helyen való képződése szerint várható lenne, hanem a mért mennyiségek folyamatosan emelkednek. A görbe alakja szokatlan, ~0,13 mmol/g értékig egy nagy

affinitású kezdeti szakasszal bír, a Giles féle csoportosításnak megfelelően az izoterma H-típusú, majd a C típusú konstans izoterma lefutását mutatja [Giles et al., 1974]. Az izoterma nagy affinitású szakasza (~0,13 mmol CA 1 g magnetit felületén) esetén nem érheti még el a teljes borítottságot a citromsav, mivel a lehetséges kötőhelyek mennyisége a felületen 0,8 mmol  $\equiv\text{Fe-OH/g}$  magnetit a koprecipitációval előállított nanorészecskéken, amiből körülbelül 0,044 mmol/g pozitív töltés tud kialakulni ilyen körülmények között [Illés & Tombácz., 2006; Tombácz et al., 2008]. A citromsav a karboxilát csoportjaival kapcsolódik a felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyekhez a magnetit felületen komplexkötéssel, így főleg kemiszorpcióval kötődik a magnetit részecskékhöz. Matijevic csoportja [Kallay & Matijević, 1985] írta le, hogy mind az oxálsav, mind a citromsav kemiszorpcióval kötődik a hematit ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) felületén, ami erősen pH függő. Elektroforetikus mobilitás mérésekből arra következtetett, hogy a citromsav 2 vagy 3 kötéssel kapcsolódhat a felülethez. A felületi komplexképződés során a citromsav valójában csak 1 vagy 2 karboxil csoportjával képes kötni a magnetit felületén egyszerű geometriai okból [Bee et al., 1995; Goodarzi et al., 2004; Sahoo et al., 2005]. Növekvő CA mennyiséggel feltételezhető a felületi kötések átrendeződése, ami egy lehetséges magyarázat a telítési állapot elmaradására, azonban érdemes szem előtt tartani, hogy az adszorpcióval párhuzamosan a magnetit részecskék oldódása is lejátszódik [Zhang et al., 1985].



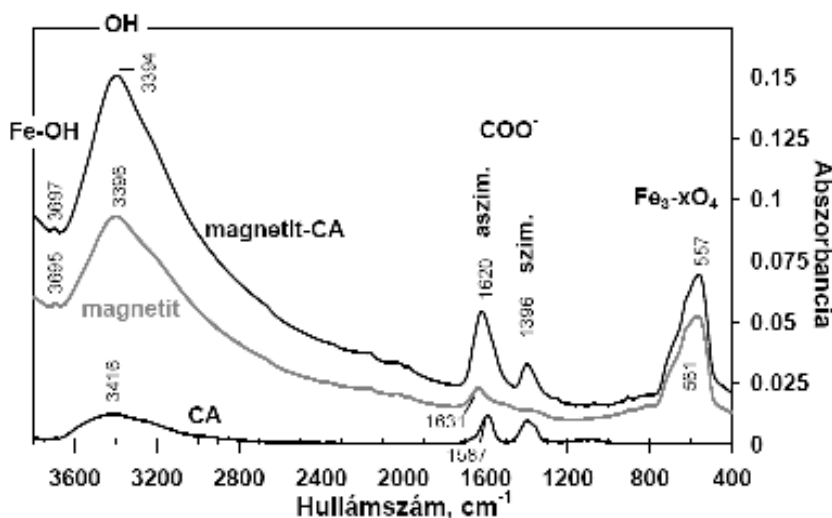
4.2.1.2. ábra A citromsav által kioldott vas koncentrációja (▲) illetve a citromsav adszorpció mértéke (◆) a hozzáadott citromsav koncentrációjának függvényében.

Az adszorpciós sorozatokban jól észlelhető, hogy a vas ionok kioldódnak a magnetit rácsból, mivel a citromsav koncentrációjának növekedésével a felülúszókban egyre intenzívebb sárga szín jelenik meg. A vas ionok kioldódását kvantitativ (lásd az ICP

méréseket a 3.2.6. fejezetben) jellemeztük (4.2.1.2. ábra), a magnetit nanorészecskék rácsának a CA adszorpciójával párhuzamosan növekvő degradációját igazoltunk.

Zhang és munkatársai [Zhang et al., 1985] hasonló kísérleti eredményeket kaptak hematit és citromsav kölcsönhatásakor 4 mmol/L CA koncentrációk fölött. Mehra és munkatársai [Mehra & Jackson, 1960] ásványi magnetitre már 1960-ban leírták a vaskioldódás jelenségét citromsav kelátképző jelenlétében. Az irodalomból jól ismert, hogy elhanyagolható mennyiségű a magnetit oldódik pH~6-nál [Cornell & Schwertmann, 1996; Illés & Tombácz, 2006], azonban az oldódási egyensúly eltolódik, ha az oldatban nagyon erős komplexképző van jelen. Kísérleteinkben a vas-citrát komplex kialakulása miatt (a stabilitási állandó logaritmus a Fe(II)-nél 3,2 és a Fe(III)-nél pedig 11,85 [Furia, 1972]). Habár a szilárd részecskék fokozott oldódása, főleg kolloid nanorészecskék esetén, komplexképzők jelenlétében (mint például a citromsav) igen jelentős lehet, a vizes közegű mágneses folyadékok területén ezt a jelenséget nem veszik figyelembe, noha a kioldódott nagy mennyiségű vas-ion jelenléte káros lehet az orvos-biológiai felhasználás során.

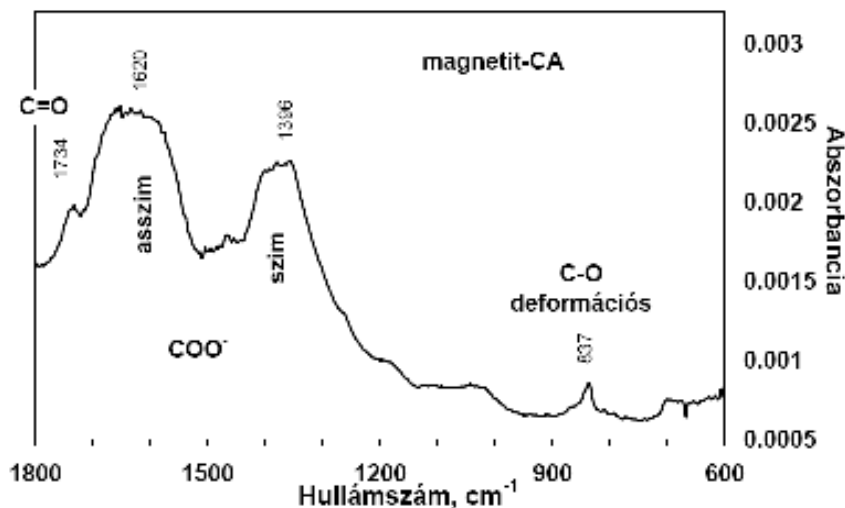
Lényeges tisztázni, hogy a citromsav hogyan kötődik meg a magnetit részecskék felületén, kialakulnak-e felületi vegyületek a  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportokkal való kölcsönhatásban. Ezért ATR-FTIR méréseket végeztem, és próbáltam azonosítani a magnetit felületén kialakuló kémiai kötéseket.



4.2.1.3. ábra A citrát (CA), a magnetit és a felületén adszorbeált citrát IR spektruma (ATR-FTIR technika, gyémánt egykristály, ~7,2 pH-jú rendszerek beszárítása).

A 4.2.1.3. ábrán látható a citrát spektruma, melyen széles, OH csúcs található 3416  $\text{cm}^{-1}$ -nél, illetve a karboxilát csoportok aszimmetrikus és szimmetrikus rezgései 1587 és 1396  $\text{cm}^{-1}$ -nél jelennek meg [Răuciu et al., 2006; Borer et al., 2007]. A magnetit felületén

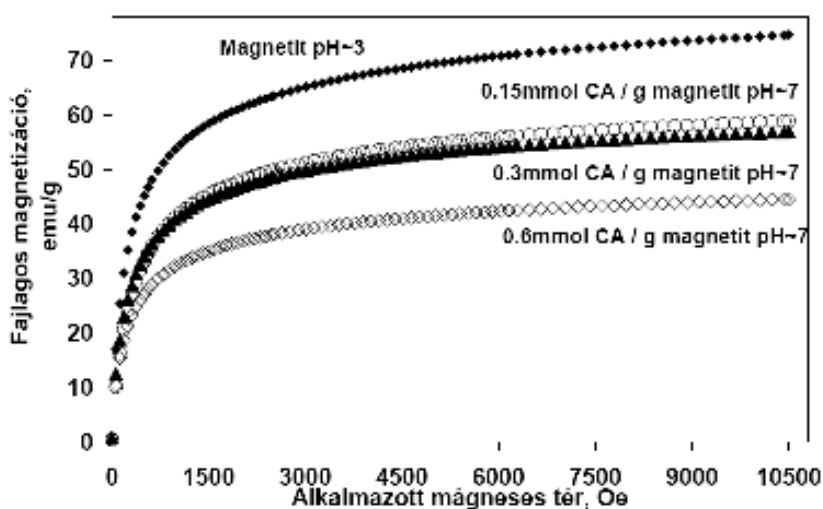
történt adszorpciót követően a karboxilát csoportok csúcsai kismértékben eltolódnak, melyek a környezetében történt változásra utalnak, illetve az OH csúcs is megváltozik, kisebb hullámszám értékek felé tolódik el. Ezen csúcsok megváltozása arra utal, hogy a CA a magnetit felületén oligomerizálódni kezd.



4.2.1.4. ábra A magnetit felületén adszorbeált citrát IR spektruma magnetit spektrum kivonását követően (ATR-FTIR technika, gyémánt egykristály, ~7,2 pH-jú rendszerek beszárítása).

A 4.2.1.4. ábrán látható a magnetit spektrum kivonása után kapott citrát spektrum, melyen  $1734\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő csúcs, mely disszociálatlan COOH csoportra utalhat, azonban az alkalmazott pH érték mellett a citrát mindhárom karboxil csoportja disszociált állapotban van, így a változás oka a lejátszódott dimerképződés. Erre utal a  $837\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő csúcs is, mely C-O deformáció esetén jelenik meg, és H-kötés kialakulása során a síkból kilépő deformációs rezgésre utal. A spektrum legérdekesebb csúcsa mégis a magnetit Fe-OH  $3695\text{ cm}^{-1}$  körüli csúcsának jelenléte az adszorpciót követően. A felületi komplexképződésre vonatkozó irodalmak [Kallay & Matijević, 1985; Lackovic et al., 2004; Borer et al., 2007; Hofmann & Liang, 2007] szerint a magnetit  $\equiv\text{Fe-OH}$  felületi hidroxilcsoportján kötődik meg a citrát egy vagy két karboxilcsoportjával (mono- vagy bidentát komplexként) kapcsolódva. A spektrumok alapján így elmondható, hogy a citrát a magnetit felületén OH hidakon keresztül, külső szférás komplexképződéssel kötődik meg [Kallay & Matijević, 1985; Lackovic et al., 2004; Borer et al., 2007; Hofmann & Liang, 2007], illetve a felületen történő megkötődést követően in situ polimerizáció történik, mely magyarázatot ad az adszorpció izoterma folytonosan emelkedő szakaszára és a telítési szakasz hiányára.

Az adszorpció hatására a magnetit nanorészecskék mágneses tulajdonságai is megváltoztak. Ahogy a 4.2.1.5. ábrán is látható a citromsav mennyiségének növelésekor a folyadék magnetizációs görbéinek telítési értéke csökken. Igen nagy ugrás tapasztalható a 0,6 és a 0,3 mmol/g CA koncentráció között. A citrát mennyiségének növekedésével a vaskioldódás növekszik, így a magnetit rácsából a vasionok eltávozásával a magnetit telítési mágnesszettsége csökken. A VSM mérések közvetett bizonyítékként szolgálnak, hogy a kioldódás következtében csökken a mágneses mag mérete a magnetit részecskékben. Időben vizsgálva a minták mágneses tulajdonságait megállapítottuk, hogy a kioldódás mértéke csökkent, azonban 6 hónappal a mágneses folyadék elkészítését követően még nem állt be az egyensúly és az oldódás nem fejeződött be. A mintákban végbemenő változások nyomonkövetése időben nagyon fontos a későbbi felhasználás miatt. A standardizálás alapvető követelménye a kémiai állandóság megőrzése, azonban a citromsavval stabilizált magnetit részecskék folyamatos kioldódása problémát jelent a leendő termék jellemzése szempontjából, amire az irodalomban eddig senki nem tett említést.



4.2.1.5. ábra Magnetit és növekvő koncentrációban hozzáadott citromsavval fedett részecskék magnetizációs görbéje, 25 °C-on mérve.

#### 4.2.2. A poliakrilát adszorpció hatása

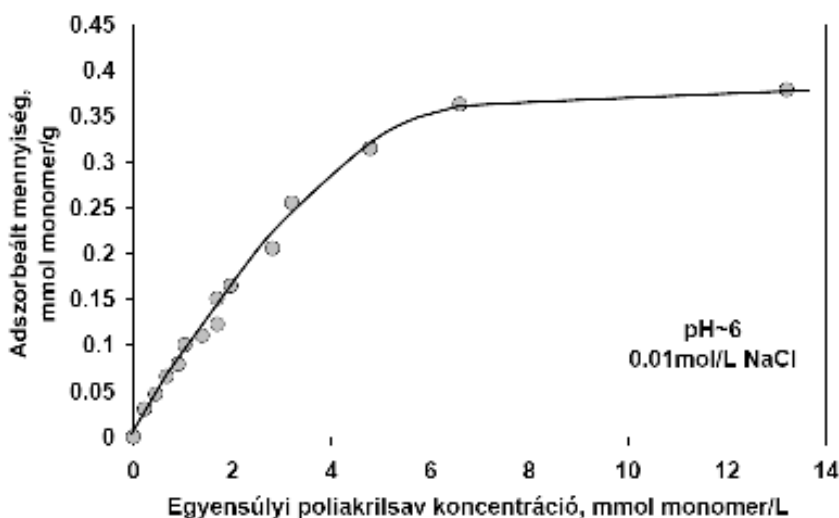
Számos kutatócsoport foglalkozik a mágneses nanorészecskék poliakrilsavas borításával napjainkban [*Liao & Chen, 2002; Si et al., 2004; Lin et al., 2005; Liu et al., 2009*]. A biokompatibilis polimer burok hidrofíl, így a specifikus fehérje adszorpció a felhasználás során kisebb mértékű, mint más kevésbé hidrofíl karakterű védőréteg esetén.

A poliakrilsav a karboxilcsoportjain keresztül kapcsolódhat a magnetit felületéhez, és a polimer felületen kötött csoportjai mellett igen nagy számban marad szabadon



karboxil csoport, mely a nanorészecskék töltését biztosítja és így stabil mágneses folyadékot eredményezhet. Az adszorpciós kísérletek folyamán növekvő koncentrációban adagoltam a poliakrilsavat a magnetit szuszpenziókhoz, míg az aggregáció meg nem szűnt, a II. Függelék 2. ábráján látható a keletkezett stabil mágneses folyadék.

A 4.2.2.1. ábrán látható adszorpciós izoterma alakja nagymértékben eltér a citromsav adszorpciós izotermájától (4.2.1.1. ábra). Itt nem alakul ki a nagy affinitású kezdeti szakasz, nagy koncentrációknál viszont telítésbe hajlik a görbe (0,35 mmol PAA/g magnetit) ellentétben a citromsavas izotermával. A polimerek adszorpciója általában 1 rétegben valósul meg, amit a kapott izoterma is mutat. A citromsav adszorpciója ~0,13 mmol/g értékig nagy affinitású. A poliakrilsav esetén jóval nagyobb fajlagos adszorbeált mennyiségénél alakul ki a monoréteg. Ha azonban figyelembe vesszük, hogy a citromsav 3 karboxil csoporttal rendelkezik, míg az akrilsav monomer csak eggyel, akkor funkciócsoportra vonatkoztatva a két érték igen jó egyezést mutat (CA~0,39 mmol/g, PAA~0,35 mmol/g). A magnetit felületén a poliakrilsav láncok megkötődése sztérikus stabilizálást is biztosít az elektrosztatikai mellett.

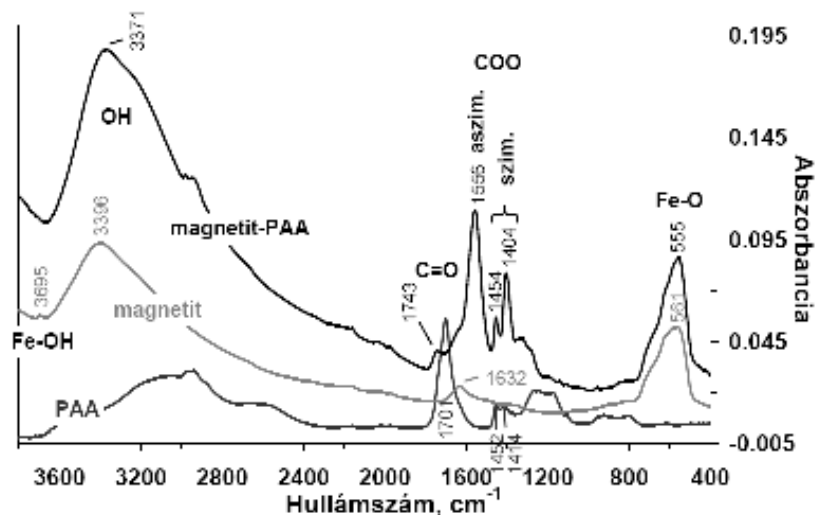


4.2.2.1. ábra A poliakrilsav adszorpciója magnetit nanorészecskék felületén, pH~6 és 0,01 M NaCl koncentráció mellett.

A poliakrilsav felületi megkötődését ATR-FTIR mérésekkel tanulmányoztam (4.2.2.2. ábra). Az ábrán a poliakrilsav, a magnetit és a poliakrilsavval stabilizált magnetit spektrumait ábrázoltam.

A spektrum legérdekesebb része az 1300 és 1800  $\text{cm}^{-1}$  közötti tartomány (a poliakrilsav karboxilcsoportjainak aszimmetrikus és szimmetrikus nyújtó rezgései), az Fe-OH csúcs körüli régió és az Fe-O csúcsok. A spektrumokat összehasonlítva megfigyelhető

a  $3695\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő Fe-OH csúcs eltűnése az adszorpciót követően. Ez arra utal, hogy a poliakrilsav ligandum csere reakcióval köt a magnetit felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportjain. A magnetit Fe-O kötése  $561\text{ cm}^{-1}$ -nél található, mely a PAA jelenlétében megváltozik, ami szintén a kölcsönhatásra utal a  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyeken.



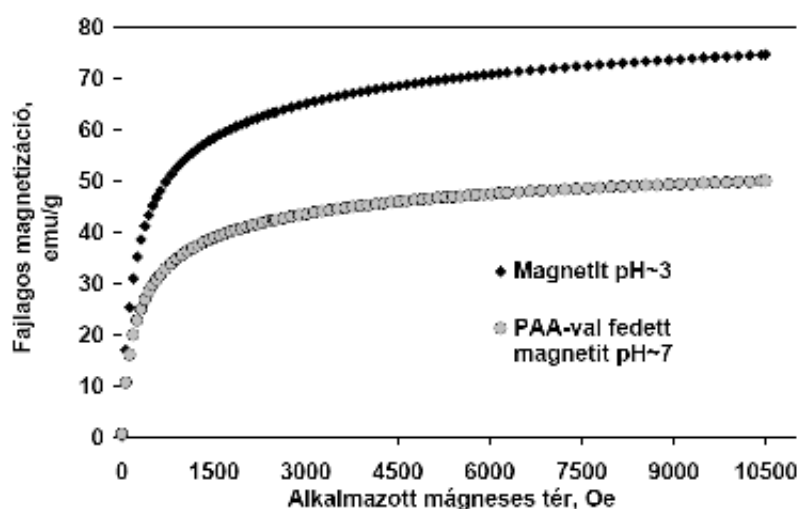
4.2.2.2. ábra Magnetit és a felületén adszorbeált poliakrilsav ATR-FTIR spektruma (~7,2 pH-jú rendszerek beszárítása gyémánt egykristályon).

A poliakrilsav spektrumával összehasonlítva a karboxilcsoport rezgési képében is jelentős változás történik. A szimmetrikus rezgések ( $1454, 1404\text{ cm}^{-1}$ ) nagyjából azonos helyen találhatóak, mint a PAA törzsoldat esetén ( $1452, 1414\text{ cm}^{-1}$ ), azonban az intenzitások aránya jelentősen módosul. Ennek az oka abban keresendő, hogy a törzsoldat pH-ja ~3-s volt, így a karboxil csoportok disszociációjának foka más, mint a mágneses folyadék esetében, ahol a pH~7,2 volt. Bronswijk és munkatársai hasonló eredményekre jutottak a poliakrilsav hematit felületén történő adszorpcióját vizsgálva [Jones *et al.*, 1998; Kirwan *et al.*, 2004]. Az adszorpciót követően a karboxilát szimmetrikus és aszimmetrikus rezgéseinek csúcsa ugyanott jelentkezett, mint az általunk kapott spektrumokon.

Amennyiben a karboxilát funkciós csoport bidentát módon (egy karboxil csoport két vasionnal koordinálódva) kapcsolódik a felülethez, a távolság a két szimmetrikus rezgés között nagyobb lenne, így feltehetőleg minden karboxilát csoport csak egy vasionhoz orientálódik. A magnetit felületén lévő poliakrilát karboxil csoportjainak aszimmetrikus rezgése  $1556\text{ cm}^{-1}$ -nél jelenik meg, mely a 3-as pH-jú PAA oldatnál teljes mértékben hiányzik a savas forma jelenléte miatt. A  $\text{C=O}$  csúcs ( $1701\text{ cm}^{-1}$ ) nagymértékben lecsökken az adszorpciót követően és a nagyobb hullámszámok felé tolódik el ( $1743\text{ cm}^{-1}$ ).

Bronswijk csoportja [Jones et al., 1998] bizonyította, hogy a poliakrilsav adszorpciója függ a pH-tól. Így az általunk alkalmazott 7-es pH mellett Bronswijkék eredményei alapján a poliakrilsav monodentát formában kapcsolódik a felületen. Ezek az eredmények vitathatatlanul alátámasztják azon feltevésünket, hogy a poliakrilsav kemisorpciós folyamaton keresztül (belső szférás komplexképződés) kötődik meg a magnetit nanorészecskék felületén.

A poliakrilsav esetén is megvizsgáltam a stabilizálás hatását a mágneses tulajdonságokra. A 4.2.2.3. ábrán jól látható, hogy a PAA fedés hatására a mágneses tulajdonságok az azonos pH-n mért magnetithez képest jelentősen lecsökkentek. Ennek oka, hogy a poliakrilsav is vasionokat old ki a magnetit rácsból, amit azonban az adszorpciós kísérletek alapján nem detektáltunk ellentétben a citromsavas stabilizálással. A poliakrilsavas minták esetében is vizsgáltuk a készítmények időbeli állandóságát és ismét tapasztaltuk a mágnesezettségi görbéiken a telítési mágnesezettség csökkenést még 6 hónap eltelte után is. A citromsavtól eltérően a poliakrilsav sztérikusán is stabilizálja a nanorészecskéket, azonban a vasionok kioldódása problémát jelenthet ebben az esetben is.



4.2.2.3. ábra VSM készülékkel meghatározott magnetizációs görbe a szintetizált és poliakrilsavval fedett magnetit részecskéknél, 25 °C-on mérve.

#### 4.2.3. A Nátrium-oleát adszorpció hatása

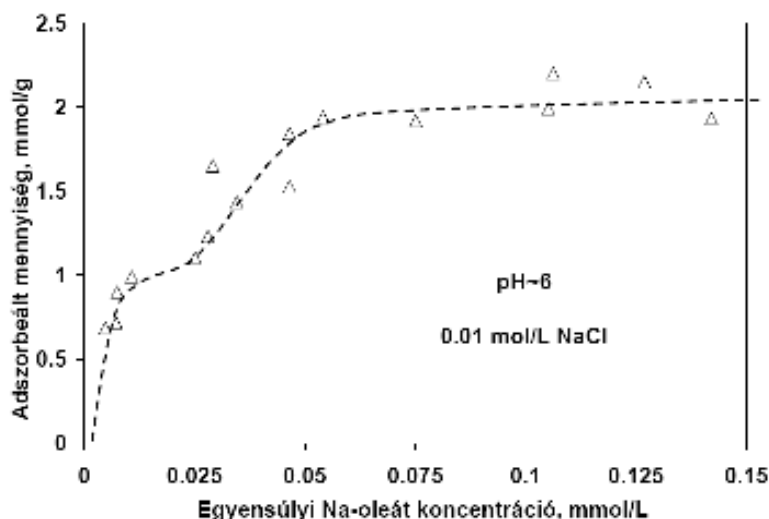
A Na-oleát ( $C_{18}H_{34}O_2Na$ ) egy hosszú hidrofób szénláncból és egy hidrofil feji részből álló telítetlen zsírsav Na-sója. Az olajsavval stabilizált szerves közegű mágneses folyadék előállítása napjainkban már rutinszerűnek mondható [van Ewijk et al., 1999; Avdeev et al., 2004; López-López et al., 2005; Bica et al., 2007]. A vizes mágneses folyadékok előállítása, a vizes közegű magnetit nanorészecskék stabilizálása zsírsavakkal, ill. azok sóival még nem megoldott. Olajsavval borított magnetit nanorészecskék

segítségével már állítottak elő olyan stabil folyadékot, mely az első réteg kialakulását követően szerves közegben a hidrofób láncok közé vízben nem oldódó hatóanyagokat kötötték be. Majd egy olyan molekulával burkolták (Pluronic), mely hidrofób résszel is rendelkezik, így kapcsolódik az olajsav láncjaihoz, de a vizes közegbe való átvitelt is lehetővé teszi. Ez a célzott hatóanyag bejuttatás egyik lehetséges formája [Jain et al., 2005].

Célunk egy kettős oleát réteg kialakítása volt, mely segítségével biztosítható a magnetit részecskék stabilizálása vizes közegben. Az oleát adszorpcióját a magnetit felületén a citromsavval és a poliakrilsavval analóg körülmények között vizsgáltam.

Az 1 napos állás az adszorpciós sorozat mindegyik mintájánál a pH ~0,5 egységgel nőtt, ami valószínűleg a felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportokon lejátszódó ligandum csere reakcióban felszabaduló,  $\text{OH}^-$ -ionok következménye ( $\equiv\text{Fe-OH} + \text{R-COO}^- \rightarrow \equiv\text{Fe-OOC-R} + \text{OH}^-$ ). A nagyobb koncentrációk esetén mikor már a kettősréteg feltételezhetően kialakult, a nanorészecskék stabilizálódtak és centrifugálással sem tudjuk teljes mértékben eltávolítani a vas-oxid részecskéket.

A II. Függelék 3. ábráján látható a növekvő mennyiségű Na-oleátot tartalmazó minták fényképe. A minták összerázását követően készült a kép. Az első üvegcsében, csupasz magnetit részecskéket tartalmazó szuszpenzió van, ebben rögtön megindul az ülepedés az összerázás után, mivel pH~6.5 mellett a magnetit nanorészecskék nem rendelkeznek nagy felületi töltéssel, és nem képesek megfelelő elektrosztatikai taszítást biztosítani a részecskéknek (4.1.1. fejezet). Az adszorpció alatt a Na-oleát koncentrációjának növekedésével az első réteg kialakulása egy destabilizálódást von maga után a hidrofób szénláncok vizes fázis felé mutató orientációja miatt. Ez látható a következő három üvegcsében, mivel a minták összerázását követően a hidrofób részecskék feltapadtak az üveg falára, valamint a képződött buborékokhoz tapadva felúsztak a víz tetejére. A koncentráció további növelésével, az oleát szénláncai hidrofób kölcsönhatásokon keresztül képesek orientálódni a már megkötődött molekulákhoz és kialakítani a második stabilizáló réteget. A kettős réteg kiépülését követően a részecskék újra diszpergálódnak a vizes közegben, az oleát karboxilát csoportja biztosítja az elektrosztatikus taszítást, a kettősréteg pedig a sztérikus stabilizálást.



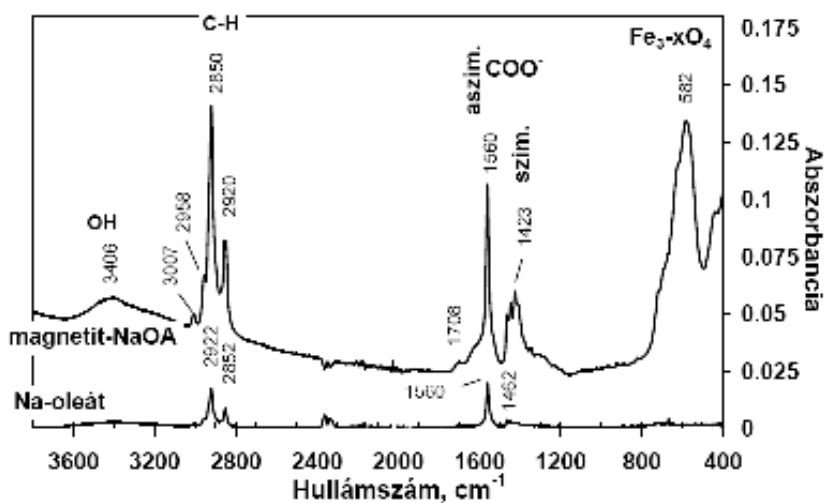
4.2.3.1. ábra A Na-oleát adszorpciója magnetit nanorészecskék felületén, pH~6, 0,01 mol/L NaCl.

Az oleát adszorpció mértékét az izoterma mutatja (4.2.3.1. ábra). A két lépcsős adszorpciós izoterma a felületaktív anyagok adszorpciójára jellemző vizes közegben [Giles *et al.*, 1974]. Az első monoréteghez tartozó lépcső ~1 mmol/g adszorbeált mennyiségnek jelenik meg, míg a második, telítésbe végződő lépcső ~2 mmol/g-nál található, ami a kettős réteg kiépülésére utal.

Figyelembe véve, hogy az  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyek sűrűsége a felületen 5 db/nm<sup>2</sup> és a magnetit fajlagos felülete ~95 m<sup>2</sup>/g, a felületi borítottság az első rétegben (~1 mmol/g) jó egyezést mutat a hozzáférhető felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyek számával (0,8 mmol/g) [Tombácz *et al.*, 2008]. Ezek a tények alátámasztják a felületi komplex kialakulását az oleát karboxil csoportjai és a magnetit  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoportja között, mint ahogy ezt feltételezték a korábbi irodalmak [Wooding *et al.*, 1991; Shen *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2006; Hong *et al.*, 2006].

Az izotermából meghatározható adszorbeált mennyiségek már az első rétegnél is jóval nagyobbak, mint a citromsav esetén a felülethez nagy affinitással kötődő ~0,13 mmol/g érték, vagy a magnetit részecskék poliakrilsavval való borításához szükséges ~0,35 mmol/g. Feltételezzük, hogy ez a különbség az oleát karboxilát csoportjainak a felületi helyekhez való gátlás nélküli hozzáféréssel magyarázható. A citromsav ugyanis a három karboxil csoportjával geometriai okokból jóval nagyobb felületet fed le a megkötődése során a magnetit felületből, hasonlóan a poliakrilsav láncainak nagyobb felületigényéhez. Míg az utóbbi két esetben monoréteges borítottság alakul ki, addig a Na-oleát amfifil molekuláiból orientált kettősréteg alakul ki, az első réteg a magnetit  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyein kötődik, a második pedig hidrofil kölcsönhatások révén az első réteg szénláncaihoz.

A Na-oleát magnetit felületén kialakuló kémiai kötéseinek meghatározására ATR-FTIR méréseket végeztem. A 4.2.3.2. ábrán a citrát és poliakrilsav adszorpciójához hasonlóan a magnetitra jellemző csúcsok megtalálhatóak  $582\text{ cm}^{-1}$ -nél, illetve a széles OH csúcs  $3406\text{ cm}^{-1}$ -nél (4.2.1. fejezet; 4.2.2. fejezet). Az oleát C-H rezgései  $2920\text{--}3007\text{ cm}^{-1}$ , illetve  $1450\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  között módosul az oleát oldathoz képest ( $2922\text{ cm}^{-1}$ ,  $2852\text{ cm}^{-1}$ ,  $1560\text{ cm}^{-1}$ ,  $1462\text{ cm}^{-1}$ ), mivel az adszorpció során megváltozik a C-H csoportok környezete. A telítetlen kötésre jellemző csúcsok  $1600\text{ cm}^{-1}$  körül beleolvadnak a karboxil csoport aszimmetrikus rezgéseibe  $1560\text{ cm}^{-1}$ -nél, azonban a kettős kötés melletti C-H rezgések  $3007\text{ cm}^{-1}$  és  $1440\text{ cm}^{-1}$ -nél mindkét spektrumon megjelennek. Az  $1708\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő csúcs vagy a C=O kötésre utal a disszociálatlan karboxil csoportban, vagy az oleát-Fe felületi kötésre utal, az utóbbi valószínűbb, mivel az alkalmazott pH érték mellett az oleát karboxil csoportja disszociált állapotban van [Korolev *et al.*, 2002; Bronstein *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2006]. A spektrumot összehasonlítva az előző fejezetekben (4.2.1. és 4.2.2. fejezet) tárgyalt magnetit spektrummal megfigyelhető, hogy az oleát adszorpcióját követően a poliakrilsavval analóg módon a  $3695\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő Fe-OH csúcs eltűnt.



4.2.3.2. ábra Na-oleát és a magnetit felületén adszorbeált Na-oleát ATR-FTIR spektruma ( $\sim 8$  pH-jú rendszerek beszárítása gyémánt egykristályon).

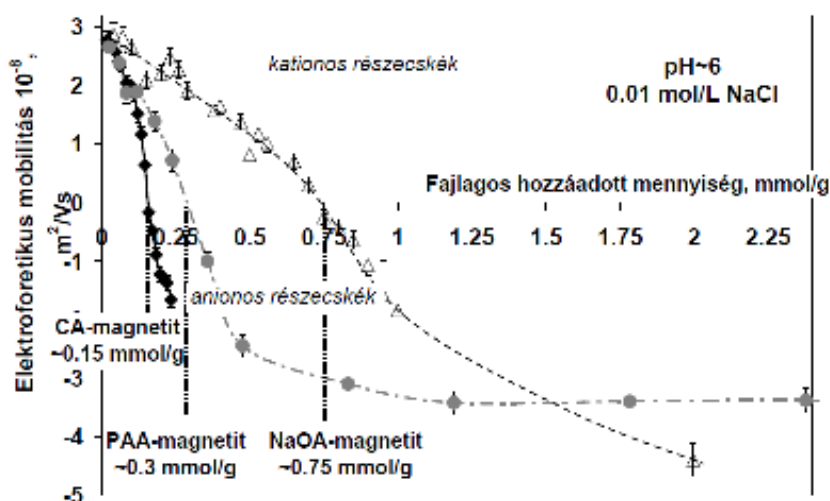
### 4.3. A stabilizáló anyagok hatása a részecskék töltésállapotára és méretére

A részecskék töltés állapotának megváltozása az elektroforetikus mobilitás mérésével követhető nyomon. A mérésekhez híg szuszpenziókra van szükség, így az adszorpciós mérések eredményeit figyelembe véve, a hozzáadott anyag fajlagos

menyiségeit (mmol/g) változtatva állítottam össze a mintákat. Vizsgáltam a részecskék töltésállapotának és hidrodinamikai méretének függését egyrészt a stabilizátorok koncentrációjának növekedésével, másrészt pedig a pH változtatásával.

#### 4.3.1. A stabilizátorok koncentrációjának hatása a magnetit töltésállapotára

Vizsgáltam az elektroforetikus mobilitás változását állandó ~6-os pH-n a stabilizátorok növekvő koncentrációja mellett. A növekvő citrát, oleát és poliakrilát jelenlétében kapott eredményeket a 4.3.1.1. ábrán mutatom be. Mindegyik görbe egy igen jól definiált pozitív értékről indul, pH~6 mellett a csupasz magnetit  $\equiv\text{Fe-OH}_2^+$  csoportokkal fedett (4.1.1. fejezet, 4.1.1.2. ábra [Illés & Tombácz, 2006].



4.3.1.1. ábra A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának változása a stabilizátorok növekvő koncentrációjával, pH~6-nál.

Az anionos stabilizátorok kis koncentrációjának jelenlétében az elektroforetikus mobilitás a pozitív tartományban marad (4.3.1.1. ábra). A citrát, a poliakrilát és az oleát koncentrációjának növelésével a mobilitás értékek csökkennek, majd a töltés semlegesítés, egy fajta i.e.p. érték elérését követően az anionos részecskékre jellemző negatív értékeket mértem. A pozitív töltések semlegesítődése minden alkalommal, jóval a magnetit adott körülmények mellett jellemző nettó felületi protontöbbletet (0,05 mmol/g [Tombácz et al., 2007]) meghaladó érték után történik meg. A pozitív töltésű magnetit nanorészecskék pH~6-nál negatívvá válnak, vagyis anionos részecskék alakulnak ki a felületen negatív töltéstöbblettel adszorbeálódó anionok jelenlétében. Az áttöltés 0,15 mmol/g citromsav hozzáadásánál következik be, ami igen jó egyezést mutat az adszorpciós izotermával (lásd 4.2.1.1. ábrát a 4.2.1. fejezetben). Hasonló analógiát fedeztünk fel poliakrilsav esetén, az adszorpciós görbe telítési értéke ~0,35 mmol/g (4.2.2. fejezet, 4.2.1.1. ábra), míg a



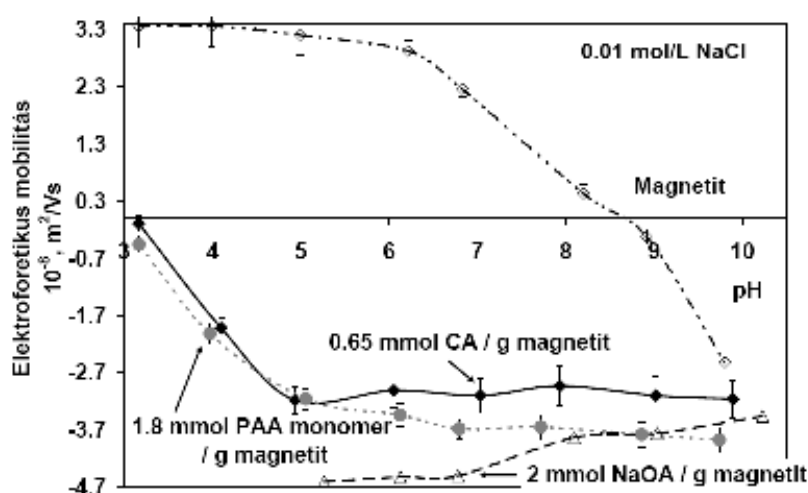
részecskék nulla töltésállapota  $\sim 0,3$  mmol/g fajlagos mennyiségnél található. A Na-oleát hozzáadásával azonban  $\sim 0,75$  mmol/g értéknél már elérjük a semleges töltésállapotot, mely éppen az első réteg kialakulásának határán található (4.2.3. fejezet, 4.2.3.1. ábra) [Tombácz *et al.*, 2008]. Az oleát második rétegének kialakulása során a felületi kettősrétegben nagy mennyiségben halmozódnak fel a negatív töltések, a stabilizáló réteg a kiindulási állapotot meghaladó mennyiségű töltést visz a részecskékre. Ez valószínűleg a részecskék nagy görbülete miatt a második rétegben rendelkezésre álló kiterjedtebb felülettel magyarázható, tekintettel arra, hogy több mint kétszer akkora felületi koncentráció ( $\sim 2$  mmol/g) szükséges a teljes borítottság eléréséhez, mint amennyi az első rétegben van ( $\sim 0,75$ -1 mmol/g). A stabilizátorok koncentrációjának növelésével az oleátos rendszerekben igen nagy negatív elektroforetikus mobilitás ( $-4,5 \times 10^{-8}$  m<sup>2</sup>/Vs) értéket mértünk, amit sem a citromsav ( $-2 \times 10^{-8}$  m<sup>2</sup>/Vs), sem a poliakrilsav ( $-3,3 \times 10^{-8}$  m<sup>2</sup>/Vs) jelenlétében nem tapasztaltunk, noha mindkét molekula esetén igen sok, a felülethez nem kötött karboxilát csoport marad az adszorpció után.

#### 4.3.2. A stabilizált magnetit részecskék pH-függő töltésállapota és aggregációja

A pH függő vizsgálatok alkalmával először a stabilizátorok különböző koncentrációi mellett vizsgáltam az elektroforetikus mobilitás változását pH=3-10 tartományban. A II. Függelék 4-6. ábráján láthatók az eredmények. Mindegyik esetben hasonló következtetéseket vonhatunk le, a stabilizátor kis koncentrációjánál a magnetit nanorészecskék saját töltése dominál, így savas pH érték mellett pozitív mobilitásokat mértem, majd a lúgos tartományok felé haladva a mobilitás érték csökken, illetve negatív értéket vesz fel. Érdekes megfigyelni, hogy a felületmódosított magnetit részecskék nulla töltésállapot pH-ja, i.e.p.-je már a stabilizátorok kis koncentrációjának jelenlétében jelentősen eltér (pH < 6,5) a csupasz magnetit esetén (i.e.p.  $\sim 8,5$ ; 4.1.1. fejezet, 4.1.1.2. ábra) mért értéktől. A II. Függelék ábráin (4-6 ábra) az is megfigyelhető, hogy amikor kialakul a magnetit felületén a teljes borítottság a részecskék mérhető töltésállapota a pH egy adott tartományban a pH-tól függetlenné vált és egyöntetűen nagy negatív elektroforetikus mobilitás értékeket mértünk. A Na-oleát esetében a pH a mérések alatt pH=5-10 között volt, mivel az oleát kisebb pH értékeknél a disszociáció visszaszorulása miatt kicsapódik, így aggregáció lép fel és a mágneses folyadékok elvesztik stabilitásukat.

A 4.3.2.1. ábrán a három stabilizátor azon koncentrációit hasonlítom össze, ahol már stabil mágneses folyadékokat kaptam, és amelyekkel az orvosbiológiai kísérletek során dolgoztam. A citromsavas borítás azért csak pH $\sim 5$  fölött eredményez nagy negatív

mobilitás értékeit, mivel ennél savasabb körülmények között a karboxil csoportok disszociációja nem játszódik le teljes mértékben, tekintettel az sáverősségükre ( $pK_1 = 2.86$ ,  $pK_2 = 4.47$ ,  $pK_3 = 5.82$ ) [Hajdú *et al.*, 2008]. Azonban a magnetit részecskék felületén csak igen nagy mennyiségű citromsav képes biztosítani a negatív felületi töltést a teljes vizsgált pH tartományban (II. Függelék 4. ábra; 4.3.1.1. ábra), így továbbra is problémát jelent, hogy ekkora mennyiségű citromsav jelenlétében nem tudjuk, hogy mennyi a kioldódott vasionok mennyisége.



4.3.2.1. ábra A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának pH függése különböző mennyiségű citrát (CA), poliakrilát (PAA) és oleát (NaOA) stabilizátor hozzáadását után; 0,01 mol/L NaCl mellett.

Az oleátos rendszerekben mért eredményeken jól látható, hogy az elektroforetikus mobilitás nagyobb negatív értékeket ér el, mint amit a citromsav vagy a poliakrilsav esetén mértem. A 2 mmol/g fajlagos hozzáadott oleát mennyiségnél már az egész pH tartományban  $-4,7$  és  $-3,5 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{Vs}$  közötti értékeket mértem. A nagyobb pH értékeknél valószínűleg azért emelkedett az elektroforetikus mobilitás értéke, mert a hidrofób láncok kölcsönhatása magasabb pH-n gyengébbnek mutatkozik, mint alacsonyabb pH-kon, így elszabadulnak a molekulák a felületről és a mobilitás értéke enyhén növekszik.

A poliakrilsavval borított részecskék mobilitás értékei a savas pH tartományban együtt futnak a citromsavval stabilizált magnetit görbéjével, azonban a semleges és a lúgos tartományban nagyobb negatív mobilitás értékeket ér el, mely feltehetően a polimer nem kötött lánc részein található nagyszámú karboxilcsoport miatt alakult ki.

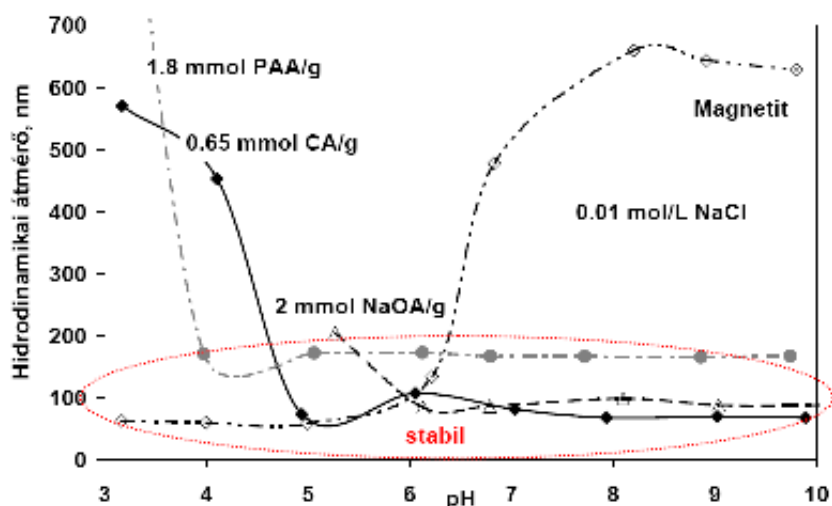
A 4.3.2.1. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy a teljesen beborított magnetit nanorészecskék mindhárom anionos stabilizátor mellett a fiziológiás pH tartományában nagy negatív töltéssel rendelkeznek. Így ígéretesek az orvosi biológiai kísérletekben, mivel

az anionos nanorészecskék, tipikusan endocitotikus folyamatok révén [Gupta & Curtis, 2004; Gupta & Gupta, 2005] a sejtmembránon könnyen át tudnak jutni.

Az elektroforetikus mobilitás vizsgálatokkal párhuzamosan a hidrodinamikai méret változását is nyomon követtem a pH függvényében. A mágneses nanorészecskék aggregációja kulcsfontosságú kérdés a felhasználási területükön. A II. Függelék 7-8. ábráin láthatók a magnetit szuszpenziók részecskeméret változásainak eredménye a stabilizátorok különböző koncentrációi jelenlétében.

A részecskeméret pH-függvényeken a magnetitre jellemző pH~8 aggregációs maximum a stabilizátorok koncentrációjával a savas pH-k felé tolódott el az anionos stabilizátorok növekvő adszorpciója miatt. A stabilizátor koncentrációjának növekedésével a részecskeméret csökken. A fiziológiás pH értéknél (pH=7) a teljes borítottság kialakulását követően kis részecskeméreteket mértünk mindhárom esetben, mely a pH széles tartományában megmaradt, ahogy a felületmódosított részecskék töltésállapotából (pl. a 4.3.2.1. ábrán látható mobilitás adatok alapján) várható is volt. A savas tartományban viszont már jelentős méret növekedést tapasztalunk, a részecskék aggregálódtak, ahol a negatív elektroforetikus mobilitás értékek is csökkentek (4.3.2.1. ábra).

Megfigyelhető, hogy mindhárom molekulával sikerült a pH-független részecskeméreteket elérése (4.3.2.2. ábra), míg azonban a citrát és az oleát tartalmú rendszerekben a kiindulási részecskeméreteket minden esetben visszakaptuk (~80 nm), illetve azoktól csak kismértékben tértek el az értékek, addig a poliakrilsavval stabilizált részecskék esetén az átlagos részecskeméret közel duplájára változott (~150 nm). Ennek oka valószínűleg a polimereket jellemző vastag adszorpciós rétegben keresendő. Míg a citrát és az oleát kismolekulák, a PAA polielektrolit, így adszorpciója nagy hurkok és farkak, azaz vastagabb réteg kialakulásával jár [Hunter, 1987]. A nagyobb poliakrilsav molekulák képesek flokkulálni a magnetit részecskéket és a nagyobb aggregátumokat is stabilizálni a hosszú láncoknak köszönhetően, mely magyarázattal szolgálna a megnövekedett részecskeméretre. Ezen elképzelés vezette Ge és munkatársait a mágnessel manipulálható fotonikus kristályok létrehozásához, amelyekben a magnetit nanorészecskék klasztereit poliakrilsavval kötötték össze és stabilizálták [Ge et al., 2007].



4.3.2.2. ábra A magnetit részecskék pH-függő aggregációja különböző mennyiségű citrát (CA), poliakrilát (PAA) és oleát (NaOA) stabilizátor jelenlétében, 0,01 mol/L NaCl mellett (a jelölt stabil tartomány kivételével a mért adatok csak egy adott kinetikai állapot aggregátumaira jellemzők).

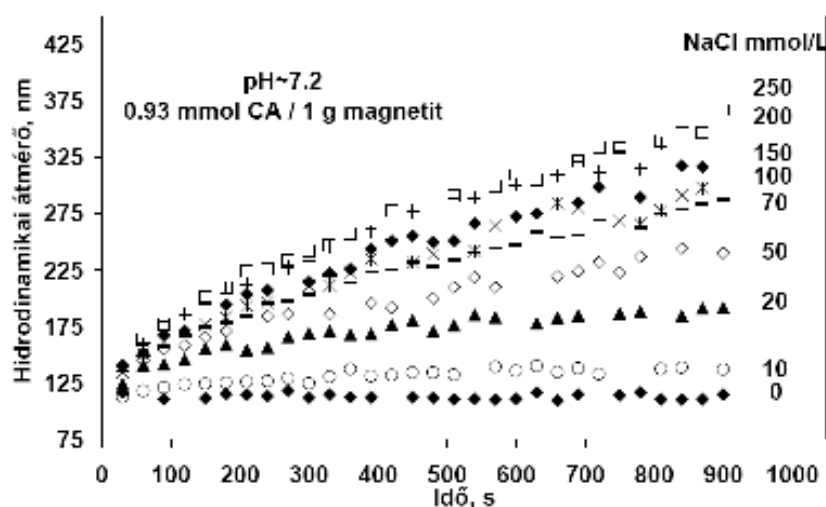
#### 4.4. Mágneses folyadékok sötűrése

Koagulálás kinetikai mérésekkel jellemeztem a rendszerek sötűrését. A vízbázisú mágneses folyadékok korrekt kolloid stabilitás jellemzését én alkalmaztam először az irodalomban, ezzel a módszerrel korábban nem vizsgálták őket. A kísérletekben a hozzáadott só hatására bekövetkező aggregációt vizsgáltam az idő függvényében. A méréseket híg rendszerekkel végeztem, melynek két alapvető oka volt, az egyik metodikai a másik pedig a jövőbeni felhasználást érinti. Az előbbinél fontos, hogy az eleve híg rendszerekben mérhető fényszórással követtem az aggregációt, és csak a nagy hígításoknál valószínű, hogy elég pontosan tudom meghatározni a monomer részecskékből dimerré alakulás folyamat sebességét. A tervezett felhasználás folyamán az elsődleges bejuttatási forma az intravénás beinjekciózás, a mágneses folyadékok a véráramba jutva pillanatszerűen felhígulnak, így a híg rendszerek valószínűleg a legjobb modellek az élő rendszerekben való viselkedés jellemzésére.

Megpróbáltam kidolgozni egy olyan mérési módszert, mellyel egyértelműen valószínűsíthető, hogy az aggregáció szempontjából mely mágneses folyadékok alkalmasak a későbbi felhasználásra és melyeket nem érdemes tovább vizsgálni a drága *in vivo* és *in vitro* kísérletekkel. A kísérletek során törekedtem arra, hogy a vér fiziológiás pH körülményei (7,2-7,4) között dolgozzak és kiválaszthassam azokat a mágneses folyadékokat, melyek fiziológiás sókoncentráció mellett (150 mmol/L) is stabilak maradnak, egyedi részecskék homogén szuszpenziójából állnak. Fontos megemlíteni, hogy a csupasz magnetit pH~7,4 körül már igen kis mennyiségű ~1 mmol/L elektrolit

jelenlétében aggregál, ezért szükséges a részecskék beburkolásával megakadályozni azok aggregációját.

Mielőtt kitérnék az eredmények értékelésére, egy-egy példán keresztül bemutatom a mérések menetét és a kapott kinetikai görbék jellegzetességét. A 4.4.1. ábrán láthatóak a 0,93 mmol/g koncentrációjú citromsav jelenlétében meghatározott a koagulálás kinetikai görbék, ahol a különböző sókoncentrációknál mért átlag részecskeméretek változását ábrázoltam az idő függvényében. A hozzáadott elektrolit koncentrációja a 10-500 mmol/L tartományt ölelte fel. Az ábrán jól látható, hogy só hozzáadása nélkül a pontok az x tengellyel párhuzamosan futnak, aggregációt nem tapasztalunk. A hozzáadott NaCl mennyiségével a görbék meredeksége eleinte nő (10-50 mmol/L), a lassú koagulálás szakaszában (a részecskék ütközéseinek csak egy része eredményez dimereket), majd függetlenné válik a só koncentrációjától a gyors koagulációs szakaszban (minden részecsketalálkozás összetapadáshoz vezet) [Schudel et al., 1997]. A kinetikai görbék meredeksége arányos a koaguláció sebességével. A stabilitási hányadost (W) a gyors és a lassú koaguláció kezdeti kinetikai görbéinek (4.4.1. ábra) a meredekségéből számoltam.

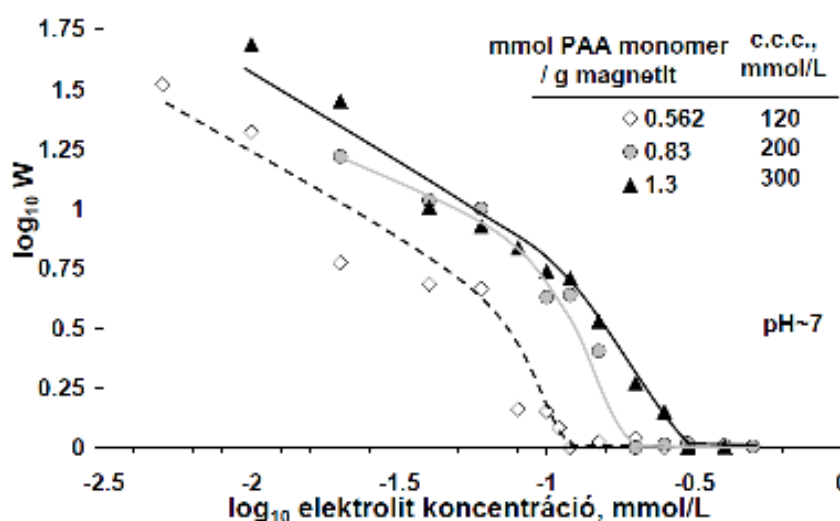


4.4.1. ábra A citromsavval borított magnetit részecskék koagulálás kinetikai vizsgálata a 10 és 250 mmol/L NaCl koncentráció tartományban (az átlagos részecskeméret időbeli változása növekvő mennyiségű só jelenlétében).

Mindegyik görbe kezdeti meredekségét meghatározva a legnagyobb értékkel elosztottam az adott görbe meredekséget, így megkaptam a stabilitási hányados értékét, melyet a kolloid stabilitás szokásos  $\log_{10} W$  vs.  $\log_{10} c$  függvények formájában ábrázoltam (hasonló lefutású görbék, mint a 4.4.2. ábrán). Az eltérő meredekségű szakaszok metszéspontja adja a kritikus koaguláltató elektrolit koncentrációt (c.c.c.). Az összes tesztelt rendszernél ugyanezt a tendenciát kaptam, így a különböző minőségű és

menyiségű stabilizátor jelenlétében meghatározott c.c.c. értékek összehasonlíthatóvá váltak.

A 4.4.2. ábrán megfigyelhetjük, hogy a stabilizátor, jelen esetben a poliakrilsav koncentrációjának növelésével a kritikus koaguláltató koncentráció értéke egyre nagyobb koncentrációk felé tolódik el. A legkisebb koncentráció esetén már 120 mmol/L elektrolit jelenlétében megtörténik az aggregáció, míg a koncentráció növekedésével a c.c.c. értékek 200 majd 300 mmol/L-ra tolódnak el. Ennek oka valószínűleg az, hogy a magnetit nanorészecskék felületén nagyobb láncsűrűségű polimer réteg tud kialakulni, mely egyre nagyobb mennyiségű elektrolit jelenlétében is képes megakadályozni az aggregáció bekövetkezését.



4.4.2. ábra A poliakrilsavval (PAA) borított magnetit részecskék kolloidstabilitása: a koagulálás kinetikai mérésekből számolt stabilitási paraméter (W) az elektrolitkoncentráció függvényében.

Mindhárom stabilizátor jelenlétében többféle fajlagos mennyiség mellett elvégeztem a koagulálási kinetika vizsgálatokat, az eredményeket a részecskék töltésállapotára jellemző mobilitás adatokkal együtt a 4.4.1. táblázatban foglaltam össze. Jól látható az értékekből, hogy bár a citromsavval stabilizált magnetit nanorészecskék nagy negatív felületi töltéssel rendelkeznek, és az előző fejezetben leírtak alapján 10 mmol/L elektrolit jelenlétében a magnetit részecskék jól stabilizáltak, kis részecskeméreteket detektáltunk, fiziológiás sókoncentráció mellett viszont már mindegyik fajlagos hozzáadott mennyiség esetén aggregálnak. A citromsav koncentrációjának növelésével a c.c.c. értékek kis mértékben növekszenek ~90 mmol/L NaCl koncentrációig, azonban a hozzáadott CA mennyiségének lényeges növelésével jelentősen nő a magnetit oldódása a már említett erős komplexképző tulajdonsága miatt, így nagyobb mennyiségű CA adagolása nem ajánlatos.

**4.4.1. táblázat A citrát (CA), oleát (NaOA) és poliakrilát (PAA) stabilizátorokkal fedett magnetit nanorészecskék elektroforetikus mobilitás (10 mmol/L NaCl jelenlétében mérve) és kritikus koaguláltató koncentrációjának (c.c.c.) adatai pH~7 mellett.**

	Fajlagos hozzáadott mennyiség, mmol/g magnetit	Elektroforetikus mobilitás, $10^{-8} \text{ m}^2/\text{Vs}$	c.c.c., mmol/L
Magnetit	0	1,31	~1
CA-magnetit	0,13	-1,54	5
	0,19	-2,59	5
	0,3	-2,86	70
	0,6	-3,1	~70
	0,93	nincs adat	~90
NaOA-magnetit	1	-2,04	5
	2	-4,17	~250
PAA-magnetit	0,562	-1,8	120
	0,83	-3,53	200
	1,3	-3,52	300
	1,8	-3,68	~450

Na-oleát jelenlétében megfigyelhető, hogy amikor az első réteg kialakulását követően hidrofóbizálódik a részecske, már igen kis elektrolit koncentrációknál aggregálódnak a nanorészecskék, azonban a második réteg kialakulását követően egy igen stabil, nagy c.c.c. értékkel (250 mmol/L NaCl) jellemezhető mágneses folyadékot kapunk, melynek sótűrése meghaladja a fiziológiás sókoncentráció értékét.

A poliakrilsavval történő stabilizálás esetén szintén sikerült olyan mágneses folyadékot előállítani, mely elviseli a fiziológiás körülményeket és nem aggregálódik nagy sótartalmú oldatokban.

A táblázatból kitűnik, hogy bár néhány esetben igen nagy negatív töltéssel rendelkezik a magnetit nanorészecske 10 mmol/L NaCl jelenlétében, azonban nagyobb elektrolit koncentrációknál aggregálódik, az elektrosztatikus taszítás nem képes megfelelő védelmet nyújtani az aggregáció ellen fiziológiás sókoncentrációknál. Az egyedi részecskék megőrzéséhez szükség van a védőburok sztérikus hatására is. Egyértelműen megállapítható, hogy a citromsavval történő stabilizálás nem eredményez megfelelően vastag burkolatot a részecskék felületén, hogy ezzel védje őket az összetapadástól. Az oleát kettősréteget alkotva, a poliakrilsav, pedig makromolekulaként kötődve alakítja ki a sztérikus hatást a magnetit részecskék felületén.

Összegezve az adszorpció, a felületi töltésállapot és részecske aggregációt befolyásoló különböző kísérleteket elmondhatjuk, hogy a citromsav 1 illetve 2 karboxil



csoporttal kötődik a felülethez, így 2 vagy 1 karboxil csoportja marad szabadon, ami az egységes negatív töltéssel biztosítja az elektrosztatikus stabilizálást a pH 6-8 tartományban. Azonban a citromsav egy rétegben kemisorbeálódott kis molekulái nem képesek megfelelő távolságot tartani a mágneses nanorészecskék között, így azok már viszonylag kis koncentrációjú elektrolit jelenlétében aggregálódnak. Problémát jelent továbbá, hogy a magnetit rácsból vasat old ki a feleslegben jelenlévő citromsav, ill. a vizsgált pH-kon főleg a citrát anionok. Így a mágneses folyadék összetétele bizonytalanná válik. Megfelelő stabilitású mágneses folyadékok előállításához nem elegendő a mágneses részecskék közötti elektrosztatikai tasztítás, a részecskéket burkoló réteg sztérikus hatása is szükséges, mely olyan kismolekulákkal, mint amilyen a citromsav is nem érhető el. Nem érhető, hogy a szakirodalom miért javasolja a citromsavval stabilizált magnetit alapú mágneses folyadékok orvos-biológiai alkalmazását, nem törődve az esetleges káros hatásokkal. A saját eredményeinket figyelembe véve kétséges a citromsavval stabilizált mágneses folyadék fiziológiás körülmények közötti alkalmazása pl. vérpályán keresztül bejuttatva.

Az oleát adszorpciója két rétegben történik meg, az első réteg kemisorbeálódik a magnetit felületi  $\equiv\text{Fe-OH}$  helyein, a második pedig hidrofób kölcsönhatások révén kötődik teljesen befedvén a részecskéket karboxilát csoportokkal. Amennyiben a magnetit nanorészecskék felületén sikerül kialakítani a kettős oleát réteget, akkor a mágneses folyadék stabil, pH-tól és igen nagy só koncentrációkig az ionerősségtől is független részecskemérettel rendelkezik. Így fiziológiás körülmények között is alkalmazhatónak minősítettük a laboratóriumi tesztek alapján.

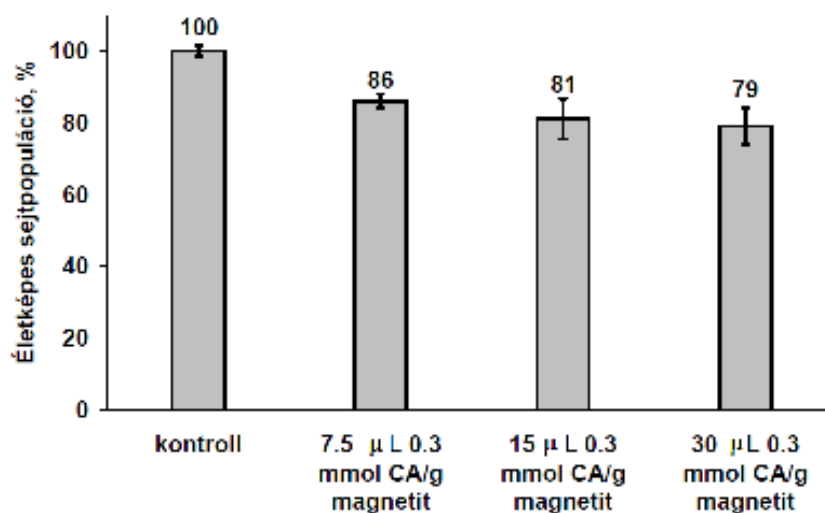
A poliakrilsav esetén az adszorpciót követően nagy negatív felületi töltésekre tesz szert a nanorészecske és a makromolekulás jellegének köszönhetően kiépült vastag burkolat hatására a sztérikus stabilizálás olyan mértékű sótűrést tesz lehetővé, mely sem a citromsav réteg, sem az oleátos kettősréteg alkalmával nem volt tapasztalható.

Az eredmények alapján a továbbiakban eltérő hozzáadott fajlagos mennyiségű (0,6 mmol/g CA, 2 mmol/g NaOA és 1,8 mmol/g PAA) stabilizátorokat tartalmazó mágneses folyadékokat vizsgáltam. Mivel az irodalomban megjelent citromsavval stabilizált magnetit nanorészecskéket felhasználó cikkek száma napjainkban is növekszik, így az általam kapott eredmények ellenére ezt a mágneses folyadékot is tovább vizsgáltam.

## 4.5. A mágneses folyadékok kölcsönhatása élő (HeLa) sejtekkel

A végső cél felé haladva első lépésként az előállított mágneses folyadékok kölcsönhatását vizsgáltam egy humán adenokarcinoma sejtvonalhoz tartozó élő sejt tenyésztettel. A mágneses folyadékokat a pufferoldatban elosztatva terítettük a sejttenyészet tetején, majd a citosztatikus és antiproliferatív hatásukat egyaránt vizsgáltuk.

A citosztatikus vizsgálatokon keresztül azt tudjuk megállapítani, hogy a sejtek életben maradnak-e a hozzáadott mágneses folyadék hatására, vagy elpusztulnak. A csupasz magnetit toxicitási vizsgálatát nem tudtuk elvégezni, mivel a pufferoldatban való elosztatás alatt azonnal aggregált. A stabilizált folyadékok esetén azonban el tudtuk végezni a sejtes kísérleteket. Mivel minden alkalommal hibahatáron belül azonos eredményeket kaptunk, így csak 1-1 példán keresztül mutatom be kísérleteinket.



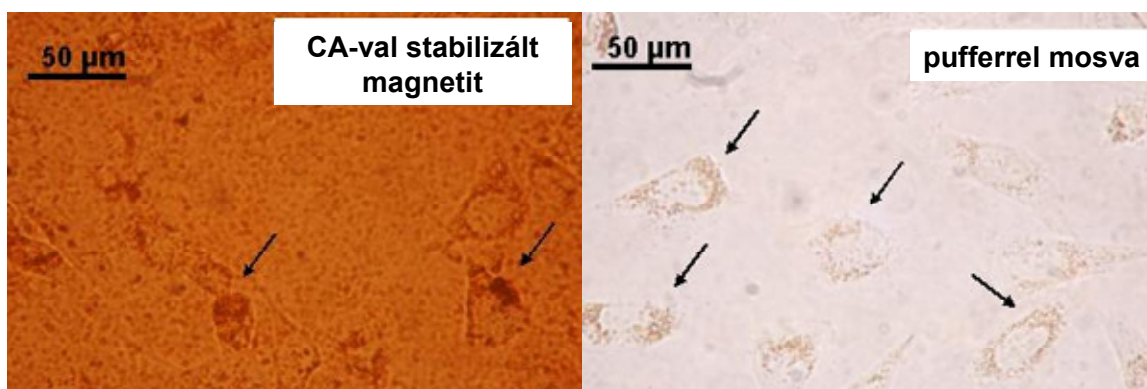
4.5.1. ábra A citromsavval stabilizált mágneses folyadékok élő sejtekkel való kölcsönhatása miatt bekövetkező sejtpusztulás után az élő sejtek százalékos megoszlása.

A 4.5.1. ábrán feltüntetett oszlopdiagrammról leolvasható, hogy a hozzáadott citromsavval stabilizált mágneses folyadék hatására az élő sejtek száma csökkent, azonban ez a csökkenés a szignifikáns toxikus hatástól jóval elmarad, mivel ahhoz, hogy egy anyagról megállapíthassuk, hogy toxikus, minimum a sejtek 50%-nak el kellene pusztulnia [Mosmann, 1983; Gupta & Curtis, 2004; Réthy et al., 2007]. Az életképes populáció kismértékű csökkenésének legfőbb oka feltehetően az, hogy a mágneses folyadékot szuszpenzió formájában adtuk a sejtek tápoldatához, ezáltal a térfogatukkal megegyező mennyiségű tápoldatot kiszorítottak, mely már nem volt elegendő a sejteknek az életbenmaradáshoz. Ezek az eredmények igen jó egyezést mutatnak az irodalmi adatokkal, melyek szerint mindeztidáig nem sikerült LD50 (letális dózis félérték) értéket meghatározni

a magnetit alapú mágneses folyadékokra [Lübbe et al., 2001; Saiyed et al., 2003; Tombácz et al., 2006].

A citosztatikus hatás mérése után vizsgáltuk a mágneses folyadékoknak a daganatos sejtek szaporodó képességére gyakorolt hatását is. Az antiproliferatív vizsgálatokhoz 72 órás inkubációs időt alkalmaztunk. Mindegyik esetben azt tapasztaltuk, hogy a sejteket nem gátolja egyik mágneses folyadék jelenléte sem a szaporodásban. Ezek után egyértelműen megállapítható, hogy az általam előállított és különböző molekulákkal stabilizált mágneses folyadékok egyike sem toxikus, így a tervezett felhasználása az orvosi-biológiában lehetséges.

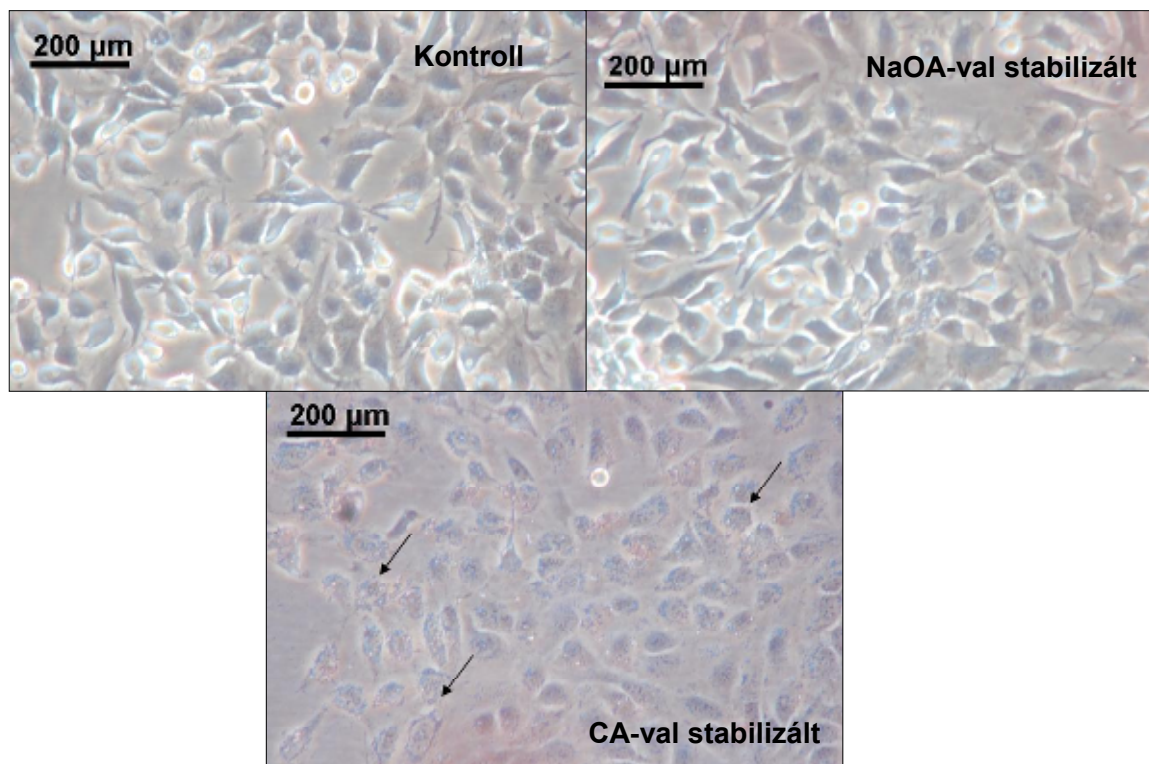
Azonban az antiproliferatív vizsgálatok során megfigyeltük, hogy a mágneses folyadékok hatására a tápoldat színe jelentősen megváltozott, illetve a citromsavas stabilizálás esetén szemmel láthatóan aggregátumok keletkeztek, melyek a sejteket tartalmazó lemez aljára kiüledtek. Az aggregáció egyértelmű meghatározása végett felvételeket készítettünk a sejtekről egy fénymikroszkóp és egy digitális fényképezőgép segítségével. A 4.5.2. ábrán mutatom be a sejtekről készült fényképeket. A bal oldali kép a mágneses folyadék hozzáadása után készült 72 órával. Megfigyelhető, hogy a mágneses folyadék elfedi a daganatos sejteket, alakjuk alig kivehető, azonban már itt is észrevehető a hatalmas aggregátumok jelenléte a sejtek környezetében. A jobb oldali képet a pufferoldattal mostuk a felvétel készítése előtt, mivel a HeLa sejtek a lemez aljához tapadnak, így a sejtek lemosódásától nem kellett tartanunk. Ezen a képen már jól kivehető a HeLa sejtekre jellemző háromszögletes alak nagy sejtmagjukkal a közepén. Az is egyértelműen megállapítható, hogy a sejtek belsejében is hatalmas mikroméretű aggregátumok találhatók, melyek a sejtmag körül az egész citoplazmát kitöltik. Ez egy újabb bizonyíték arra nézve, hogy a citromsavval stabilizált magnetit nanorészecskék az élő rendszerekben uralkodó viszonyok között aggregálódnak.



**4.5.2. ábra A citromsavval stabilizált magnetit nanorészecskék HeLa sejtekben történő felhalmozódása, illetve aggregációja a sejtek belsejében és környezetükben (nyilakkal jelölve).**

A nanorészecskék sejten belüli felhalmozódása az irodalomból jól ismert [*Pankhurst et al., 2003; Berry & Curtis, 2003; Gupta & Curtis, 2004; Muthana et al., 2008*], habár mindezidáig senki nem tudott egyértelmű magyarázatot adni rá, hogyan jutnak be a sejtek belsejébe a nanorészecskék. Feltételezések vannak arra nézve, hogy endocitózissal vagy fagocitózissal jutnak át a sejtmembránon, azonban az eddigi vizsgálatok azt mutatják, hogy ilyen módon 150 nm-nél nagyobb részecskék nem képesek átlépni a sejtplazmába [*Berry, 2009*]. A meglepő azonban számunkra az volt, hogy a nagymennyiségű aggregátum jelenléte nem zavarta a daganatos sejteket az életfolyamataik normális menetében, képesek voltak továbbra is felvenni táplálékukat és szaporodni. A másik két stabilizáló molekula esetén ilyen nagymértékű aggregációt nem tapasztaltunk. Egyértelműen nem jelenthetjük ki, hogy a poliakrilsav és a Na-oleát esetében aggregáció nem következik be, azonban azt megállapítottuk, hogy mikronos méretű nanorészecske halmazok nem alakultak ki.

A nanorészecskék, vagy mikrorészecskék azonban nem csak a sejtek belsejében halmozódtak fel, hanem a sejtek felszínén is. Ennek kimutatására szudán vörös membránfestéssel festettük meg a sejteket, és ugyanolyan körülmények között, készítettünk róluk felvételt, mint az előző esetben. A 4.5.3. ábrán látható a kontroll, a Na-oleáttal és a citromsavval borított magnetit nanorészecskék kölcsönhatása a HeLa sejtekkel. Az oleáttal stabilizált mágneses folyadék esetén a sejtek felszínén nem látunk fénymikroszkóppal kimutatható aggregátumokat, a kontroll és a magnetit nanorészecskéket tartalmazó kép között nincs észlelhető különbség. Azonban a citromsavval stabilizált mágneses folyadékok esetén hasonlóan az előző tapasztalatokhoz, most is nagy aggregátumokat fedeztünk fel a sejtek felszínén. A festés hatására a HeLa sejtek felszíne csillógó fényes lesz, melyet az aggregátumok elfednek, a sejtek felülete érdekessé válik az aggregátumoktól. Ezek laza aggregátumok, és ha eltávolítanánk a pufferoldatban és a sejtek belsejében található nagy mennyiségű só, akkor visszakaphatnánk az eredeti stabil szuszpenziót. Feltételezzük, hogy a kölcsönhatás a részecskék és a sejtmembrán felületén lévő transzport rendszerek között elegendően nagy ahhoz, hogy ezeket az aggregátumokat megbontsa és a sejt belsejébe juttatassa a részecskéket, majd a sejtplazmában újra összetapadhassanak.



**4.5.3. ábra** Szudán vörös membránfestékkel megfestett HeLa sejtek mágneses folyadék hozzáadása nélkül, illetve Na-oleáttal és citromsavval stabilizált mágneses folyadékok hozzáadása után készült felvételei.

Tekintettel arra, hogy a koagulálás kinetikai eredményekkel összhangban a NaOA és PAA által stabilizált MF-k nem aggregáltak fiziologias körülmények mellett, viszont a CA stabilizált rendszerek mindkét vizsgálatban nagymértékű aggregációt szenvedtek, a sejtes kísérletek egyértelműen alátámasztották azt a feltevést, miszerint a koagulálás kinetikai vizsgálatok elvégzésével megjósolható az adott mágneses folyadék, élő rendszerekben történő aggregációs viselkedése.

#### **4.6. A mágneses folyadékok kontrasztképző hatása és térerősség függése (MRI, $H^1$ -NMR)**

A mágneses folyadékok kontrasztképző hatását már régóta vizsgálják, ahogy már említettem az irodalmi áttekintésben is (2.2.1. fejezet) [*Bonnemain, 1996; Pankhurst et al., 2003; Saiyed et al., 2003; Yan et al., 2007, Jain et al., 2008*]. A szövetekben lévő protonok T1 relaxáció sebességének mérésén alapul az MRI diagnosztikai alkalmazhatósága, mivel a rosszindulatú elváltozások esetén az élő szövetek kb. 80 %-át alkotó vízmolekulák hidrogénjeinek relaxációs ideje eltér az egészséges sejtekben. Ahogy az irodalmi áttekintésben már összefoglaltam, a mágneses folyadékok T1 relaxációja nem kimagasló, azonban a T2 relaxációjuk minden eddigi kontrasztanyagot felülmúl. A mágneses folyadék

mikrokörnyezete, a protonok közelsége a mágneses maghoz, a primer részecskeméret, a koncentráció és a mágneses klaszterek kialakulása nagymértékben befolyásolja a protonok relaxációs sebességét, így a térerősség mellett fontos megvizsgálnunk a mágneses nanorészecskéket stabilizáló rétegek hatását is a relaxációs sebességekre [[Roch et al., 2005](#)].

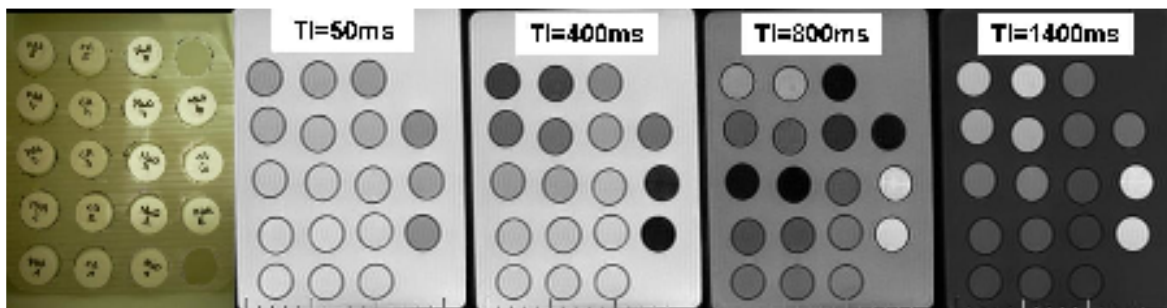
Méréseim során referenciaként a jelenleg Magyarországon is használt gadolínium alapú Magnevist-et használtam, valamint a Resovist-et alkalmaztam, mely már forgalomban lévő szuperparamágneses magnetit nanorészecske alapú kontrasztanyagok egyike. A Resovist dextránnal borított, ~63 nm hidrodinamikai átmérővel rendelkező magnetit részecskéket tartalmazó mágneses folyadék. Az irodalmi adatok alapos áttanulmányozása után megállapítható, hogy a Resovist-re mért eredmények igen nagy szórást mutatnak [[Weissleder et al., 1990](#); [Wang et al., 2001](#); [Yan et al., 2007](#)]. Nehéz eligazodni a leírt adatokon, mindegyik mérésre találhatunk referenciát, ezért választottam azt a megoldást, hogy az általam használt berendezéseken lemérve saját referencia értékekkel fogok dolgozni.

#### **4.6.1. A mágneses nanorészecskéket stabilizáló molekulák szerepe a mágneses folyadék kontrasztképző hatásában**

Ebben a fejezetben a különböző stabilizáló molekulák a T1 és T2 relaxációra gyakorolt hatását szeretném bemutatni egy adott térerősség mellett. A jövőbeni felhasználás miatt a klinikai MRI készüléket választottam, így ezen a térerősségen (1,5 T) mért eredmények kerülnek tárgyalásra. A használt stabilizátorok magnetit tömegére vonatkoztatott fajlagos mennyisége ugyanaz, melyet az előző fejezetekben is alkalmaztam: 0,6 mmol citromsav/ g magnetit, 2 mmol nátrium-oleát/ g magnetit illetve 1,8 mmol poliakrilsav/ g magnetit. A törzsoldatok pH-ja 7-es körüli lett beállítva és a részecskék hidrodinamikai átmérője ~100 nm volt. Ezt követően kismértékű pH eltolódást tapasztaltam a törzsoldatokból történő hígítás következtében, azonban pH 6-7 között nem jelentkező figyelemre méltó változás a relaxivitás eredményekben. Az utólagos pH állítással azonban ismeretlen mennyiségű és mintánként eltérő só keletkezne a koncentrációsorozat különböző tagjainál, így célszerű volt a pH kismértékű elcsúszása mellett az elektrolitkoncentrációt rögzíteni. A Resovist mellett a csupasz magnetit részecskéket is próbáltam referenciaként alkalmazni. pH~7 mellett azonban a magnetit aggregál, a nanorészecskék összetapadtak és a tároló edény alján összegyűlve az általunk vizsgált területen nem befolyásolták a víz relaxációját, így nem tudtunk megállapítani



különbséget a háttér víz és az aggregátumokat tartalmazó minták között. Ez a tapasztalat is azt bizonyítja mennyire fontos a nanorészecskék homogén eloszlása az adott közegben ahhoz, hogy a kapott képen eltérést tapasztaljunk. Ennek érdekében a magnetit szuszpenziókat savas pH (3-4) mellett, jóval a fiziológiás pH alatt mértük le.



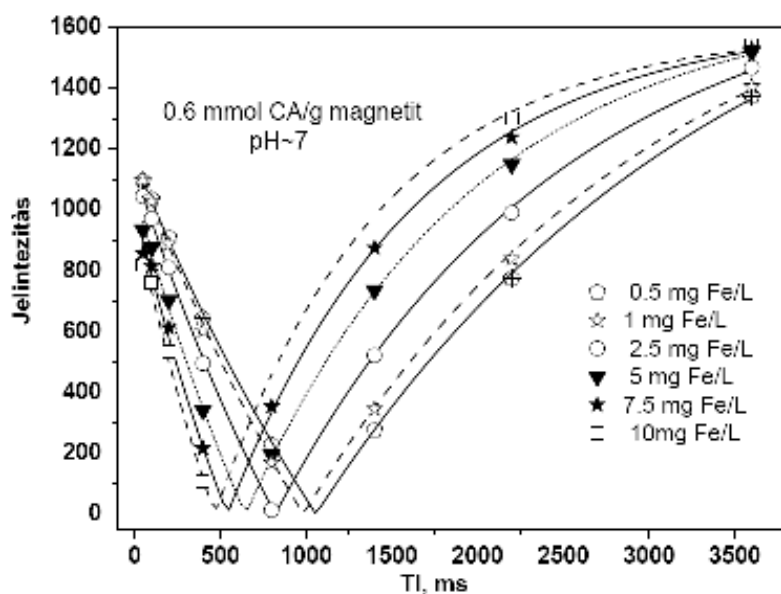
**4.6.1.1. ábra** Különböző molekulákkal (PAA – 1. oszlop, CA – 2. oszlop és NaOA – 3. oszlop) stabilizált mágneses folyadékok T1 relaxáció sorozatképe különböző relaxációs állapotban 1,5 T klinikai MRI készülékben, a koncentráció letről felfelé növekszik, és a legutolsó oszlopban van a 3 legtöményebb minta.

A mágneses nanorészecskék közelsége rövidíti a protonok T1 relaxációs idejét, a felvételeken a mágneses folyadékok helyén a kép sötétebb vagy világosabb lesz, ahogy az a 4.6.1.1. ábrán is látható. Képen látható a kísérleti elrendezés következtében kialakuló képszelet a mintákról, melyekről a készülékbe beépített kiértékelő módszer segítségével az adott területek intenzitása meghatározható és a T1 relaxivitás adatok kiszámolhatók.

A kapott jelintenzitások leolvasását követően a 3.2.11. fejezetben leírt egyenletek alapján a pontokra exponenciálist illesztve a T1 relaxáció meghatározható, melyre példaként a 4.6.1.2. ábrán a citromsavra kapott eredményeket mutatom be. Mindegyik mérés során hasonló lefutású görbékkel illeszthető pontokat kaptam.

A görbe mutatja a kezdeti mágnesezettségre való visszatérést abszolútértékben. A T1 értéke definíciószerűen a kezdeti mágnesezettségre való visszatérés 63%-nál leolvasható érték [Hore, 2004]. A T1 relaxációs értékekre kapott eredményeket a 4.6.1.1. táblázatban foglaltam össze. Az adatsorokból kitűnik, hogy már a legkisebb koncentrációknál kapott T1 értékek között is eltérés mutatkozik a különböző stabilizátorok jelenlétében, és ez a különbség a legtöményebb rendszerek esetén még jelentősebbé válik.





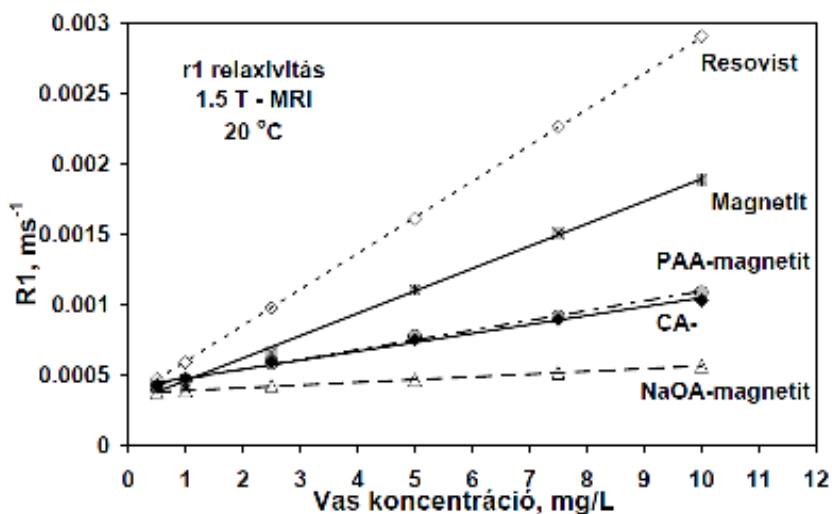
4.6.1.2. ábra 1,5 T MRI készülék segítségével meghatározott jelintenzitás az inverziós idő (TI) függvényében. A vonalak a legjobb illesztést (> 99%) ábrázolják a mért pontokra, 20 °C-on, TE=9ms, TR= 4000ms.

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit	CA-magnetit	PAA-magnetit	NaOA-magnetit	Resovist
0.5	2425.8	2392.4	2738.0	2682.8	2139.1
1	2246.0	2122.2	2289.2	2588.3	1704.5
2.5	1531.8	1689.9	1756.6	2383.6	1024.1
5	903.9	1335.7	1316.7	2156.5	621.2
7.5	664.5	1119.6	1140.7	1951.1	442.8
10	530.6	973.2	1001.9	1783.4	344.5

4.6.1.1. táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T1 relaxációs adatai ms-ban kifejezve a koncentráció függvényében 1,5 T, 20°C, TE=9 ms, TR= 4000 ms.

Az emberi szövetekben található protonok relaxációs ideje 300 és 2000 ms között található, a szabad víz protonjainak pedig 2000 és 3000 ms között. A protonok relaxációját jelentősen befolyásolja, hogy a víz kötött vagy szabad állapotban van jelen. A kötött víz (fehérjéhez, szövetek belsejében, stb) átveszi a nagy molekula mozgását, így relaxációs ideje megváltozik, gyorsabban történik meg a lecsengés. Ezért például a zsírszövet protonjai sokkal hamarabb relaxálnak, mint az érpályákban szabadon diffundáló vízmolekulák protonjai [McRobbie et al., 2003]. A T1 relaxáció azonban koncentrációtól függő paraméter. Ahhoz, hogy a vizsgált mágneses folyadékokat egyértelműen összehasonlíthassuk egy olyan paraméter szükséges, mely független az alkalmazott koncentrációtól, viszont függ az anyagi minőségtől. Ez a paraméter a relaxivitás, melyet úgy kapunk meg, ha a relaxációs idők reciprokát ábrázoljuk a vas koncentrációjának függvényében, és a kapott meredekség a relaxivitás. A 4.6.1.3. ábrán látható a T1 relaxáció

reciprokának azaz a longitudinális relaxációs sebességének koncentráció függése a különböző stabilizátor molekulák jelenlétében.



4.6.1.3. ábra A különböző mágneses folyadékok longitudinális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 1,5 T, 20 °C, TE=9 ms, TR= 4000 ms-on végeztem.

Az ábrán látható, hogy a legnagyobb relaxációs sebessége a Resovist-nek van, majd a magnetitnek. A magnetit a nagy meredeksége azzal függ össze, hogy a T1 relaxációt alapvetően befolyásolja a hidrofíl környezet mellett a vízmolekulák protonjainak a közelsége a mágneses maghoz [Bonnemain, 1996, Schaefer, 1996]. Mivel a csupasz magnetit nem rendelkezik semmilyen borítással, ellenben nagy pozitív töltése van savas pH-n a felületi  $\equiv\text{FeOH}$  csoportok protonálódása miatt [Tombácz et al. 2007], így a vízmolekulák közvetlen a mágneses mag mellett helyezkednek el, feldúsulhatnak, mely gyors relaxációt tesz lehetővé. A borítás hidrofilitásának változását is egyértelműen mutatják a mért adatok, nevezetesen Na-oleát esetén (4.6.1.3. ábra alsó, csaknem vízszintes egyenese), amikor a stabilizálás hidrofób kölcsönhatások révén alakul ki, a vízmolekulák nem képesek a mágneses mag közelébe kerülni, így a protonok relaxációját nem tudja jelentősen módosítani. A hidrofíl citromsav és a poliakrilsav rétegeknél azonban megjelenik a gyorsító hatás. Természetesen a borítás hatására csökken a relaxivitás, a részecskék borítása viszont szükséges a vizes közegben való stabilizálásukhoz. A Resovist kimagasló eredményét pillanatnyilag nem tudjuk értelmezni. Első feltételezésünk a kisebb átlagos részecskeméret volt, azonban miután méréseket végeztünk különböző méretű nanorészecskék T1 relaxációra gyakorolt hatására nézve (az adatokat itt nem ismertetem), azt tapasztaltuk, hogy a maximális különbség a kapott relaxivitás értékeknél nem haladta meg a 20-30 %-ot és nem közelítette meg a Resovist-re kapott relaxivitás értéket. Így

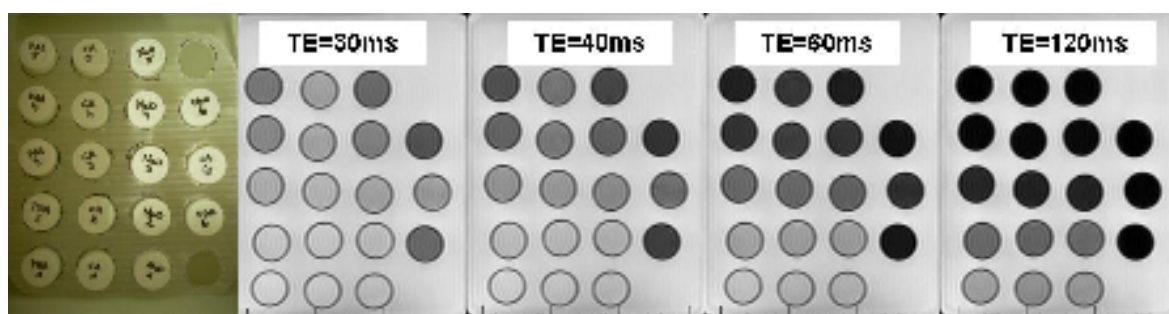
feltételezzük, hogy a nagy eltérés vagy a dextránnal való borításnak köszönhető, vagy az eltérő módon előállított magnetit nanorészecskének.

Minták	1.5 T, 20°C $r_1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	1.5 T, 20°C $r_2$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Magnetit	8.9	429.5
NaOA-magnetit	1.1	240.2
PAA-magnetit	3.9	232.4
CA-magnetit	3.5	155.7
Gd-DTPA	4.7	5.3
Resovist	14.4	305.8

**4.6.1.2. ábra** A különböző (NaOA, PAA és CA) borítással rendelkező magnetit nanorészecskéket tartalmazó MF-k, illetve a Magnevist (Gd-DTPA) 1,5 T MRI készülék, 20°C relaxivitás adatai.

Az  $r_1$  relaxivitás értékeket a 4.6.1.2. táblázatban foglaltam össze. Az irodalmi áttekintésben részletesen tárgyaltam a Gd-DTPA kontrasztanyag kiváló T1 relaxációs hatását, mely a táblázatból is kitűnik, valamint az, hogy az általam előállított és stabilizált mágneses folyadékok nem közelítik meg ezt a hatást. Érdekes módon a Resovist nemcsak megközelíti, de majdnem háromszor akkora effektust vált ki, ami meglepő, mivel eddig egyetlen általam ismert irodalom [*Bonnemain, 1996, Schaefer, 1996; Pankhurst et al., 2003*] sem írta le a superparamágneses vas-oxid alapú kontrasztanyagok  $r_1$  relaxitásának eredményességét.

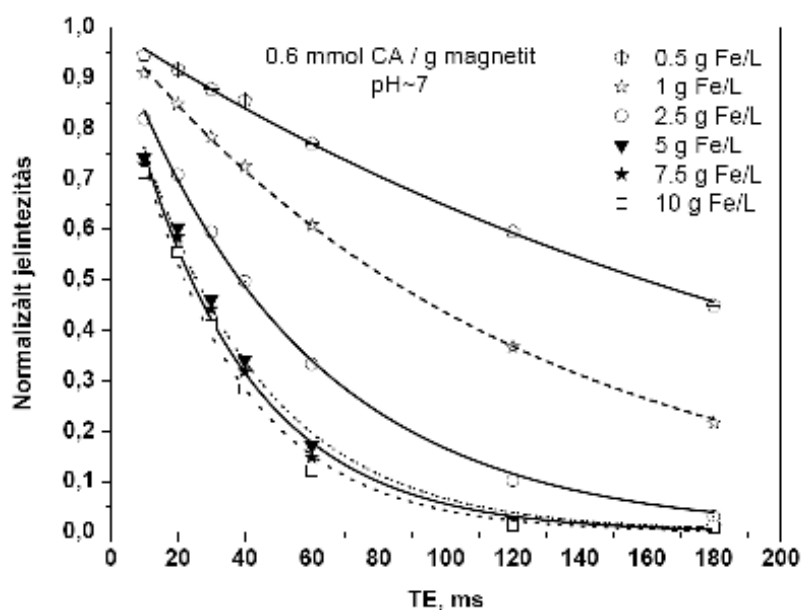
A T2 relaxációt ugyanazokon a mintákon mértük hasonló képsorozat sorozat (4.6.1.4. ábra) elkészítése után, mint a T1 relaxáció esetén.



**4.6.1.4. ábra** Különböző molekulákkal (PAA – 1. oszlop, CA – 2. oszlop és NaOA – 3. oszlop) stabilizált mágneses folyadékok T2 relaxáció sorozatképe különböző relaxációs állapotban 1,5 T klinikai MRI készülékben, a koncentráció lentől felfelé növekszik, és a legutolsó oszlopban van a 3 legtöményebb minta.

A T2 felvételeken a víz világos, pl. az agy esetében a T2 felvételeken a szürkeállomány világosabb a fehérállománynál. A T2 szekvencia általában gyorsabb, mint a T1, az erek a mozgó vér miatt fehéren ábrázolódnak, és a képek kontrasztját a szuszceptibilitási különbségek befolyásolják. A képsoron nyomon követhető a mágneses folyadékok gyors relaxációja a vízhez képest, ami még az utolsó képszeleten is fehéren

rajzolódik ki, azonban a vas-oxidot tartalmazó téglékben már fekete a kép a relaxáció lecsengése után. A kapott jelintenzitások leolvasását követően ebben az esetben is a 3.2.11. fejezetben leírt egyenletek alapján a pontokra exponenciálist illesztve a T2 relaxáció meghatározható, melyre példaként ismét a citromsavval stabilizált MF-re kapott eredményeket mutatom be a 4.6.1.5. ábrán. Mindegyik mérés során hasonló lefutású görbéket kaptam.



4.6.1.5. ábra A 1,5 T MRI készülék segítségével meghatározott normalizált jelintenzitás értéke az echoidó (TE) függvényében. A vonalakat illeszttem a pontokra és az illesztés paramétereit alapján számoltam a T2 időket.

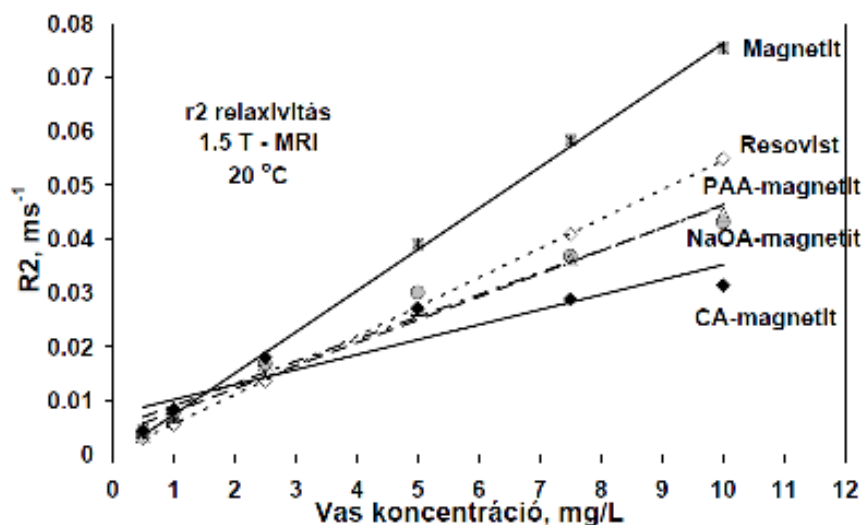
Az ábrán a lecsengések láthatók, a T2 relaxáció, az az idő, ami alatt a transzverzális magnetizáció lecsökken az eredeti 37%-ra [Hore, 2004]. Minél töményebb a mágneses folyadék, annál hamarabb történik meg az alapállapotba történő visszatérés. Az emberi szövetek T2 relaxációja 30-150 ms közötti tartományra esik [McRobbie et al., 2003].

A 4.6.1.3. táblázatban mutatom be a görbékől a különböző stabilizátorokat tartalmazó mágneses folyadékokra meghatározott T2 értékeket növekvő koncentrációik függvényében. Hasonlóan a T1 relaxációhoz ebben az esetben is jelentős eltéréseket tapasztalunk az egyes mágneses folyadékok között.

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit	CA-magnetit	PAA-magnetit	NaOA-magnetit	Resovist
0.5	220.6	229.6	252.2	305.5	342.7
1	144.3	120.1	128.8	142.2	181.1
2.5	59.3	55.7	59.7	60.1	73.5
5	25.6	36.9	33.3	37.1	36.8
7.5	17.2	34.7	27.2	27.7	24.5
10	13.3	31.9	23.2	22.4	18.2

4.6.1.3. táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T2 relaxációs adatai ms-ban kifejezve, a koncentráció függvényében 1,5 T, 20°C.

A 4.6.1.4. ábrán látható a T2 relaxáció reciprokának azaz a transzverzális relaxációs sebességének koncentráció függése a különböző stabilizátor molekulák jelenlétében.



4.6.1.6. ábra A különböző mágneses folyadékok transzverzális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 1,5 T, 20 °C-on végeztem.

Ahogy az ábrán is látható, a T1-hez képest megváltozik a különböző stabilizátorok hatása a T2 relaxációra. A mágneses nanorészecskék mikrokörnyezetükben inhomogenitást okoznak és ennek következtében a protonok mágnesezettségében fázisvesztés következik be [Bonnemain, 1996; Schaefer, 1996]. Ennek hatására rövidül a T2 relaxáció. A magnetit itt is jóval nagyobb R2 értékeket ér el, mint a többi mágneses folyadék. Ebben az esetben is vizsgáltuk a különböző részecskeméretű csupasz magnetit részecskék hatást (az adatokat itt nem ismertetem), ami itt sem volt szignifikáns, a kapott relaxációs értékek kevesebb, mint 10 %-ban tértek el egymástól. A Resovist és az általam stabilizált mágneses folyadékok között azonban már nincs akkora különbség, mint az R1 relaxációs sebességeknél volt. Meglepő eredmény a citromsavval stabilizált vas-oxidoknál az adatok nagysága és a várt lineáris függés helyett a telítési görbére emlékeztető lefutásuk, amit többszöri ismétléssel reprodukáltunk. Nem találtunk magyarázatot vagy információt sem arra, hogy miért ad kisebb jelintéztást, mint a másik két stabilizátort tartalmazó minta, sem arra, hogy miért nem lineáris a függés a koncentráció és a relaxációs sebesség között.

Az r2 relaxitás értékeket a 4.6.1.2. táblázatban foglaltam össze. A Magnevist (Gd-DTPA) kontrasztanyag T2 relaxációs hatása, az irodalmi adatokkal ( $5,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) jól egyezve igen kis értéket mutat [Bonnemain, 1996]. A jelenleg forgalomban lévő szuperparamágneses vas-oxid alapú kontrasztanyagok r2 relaxitása meghaladja a jelenleg használt Gd-komplex alapú kontrasztanyag relaxitását. A Na-oleát kettős réteggel burkolt

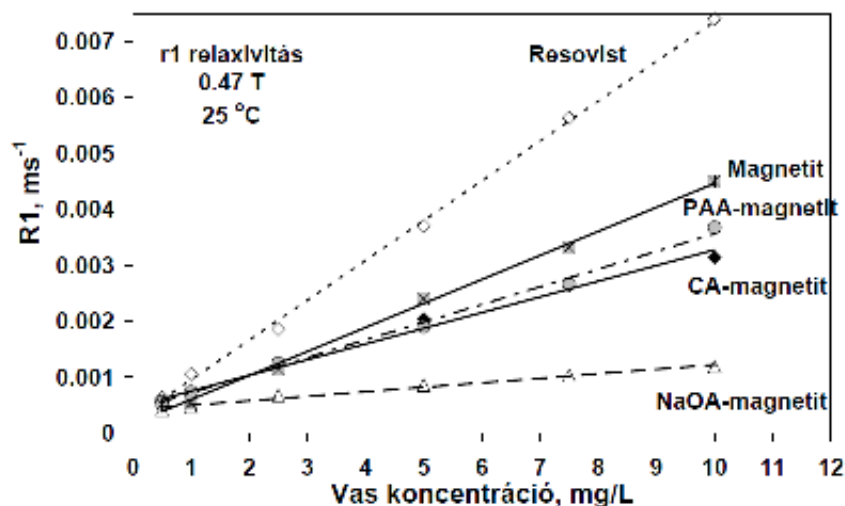
nanorészecskéket tartalmazó rendszereknél megfigyelhető, hogy mindkét relaxáción alapuló MRI felvételen negatív képet ad (sötét foltként rajzolódik ki a 4.6.1.1. és a 4.6.1.4. felvételeken), mely a gastrointestinalis rendszer képalkotási módszeréhez szükséges feltétel [Babos, 2006], így bár a Resovist paramétereitől elmarad a hatásfoka, mégis előnyös lenne a kontrasztanyagként történő felhasználásra.

#### 4.6.2. A mágneses folyadékok térerősség függő kontrasztképző hatása

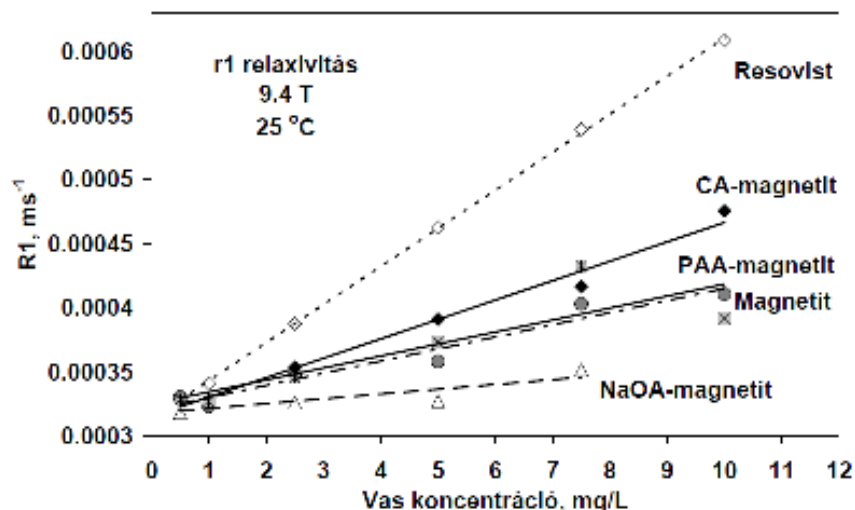
A szuperparamágneses nanorészecskéket tartalmazó kontrasztanyagok térerősség függő vizsgálatát azért tűztük ki céljaink közé, mert jelenleg 1 illetve másfél Teslás készülékeket használnak a humán klinikai vizsgálatok során. Emellett az állat MRI-k egy része 0,47 Teslás, viszont az ember vizsgálatok során törekednek a nagyobb térerősségek alkalmazására. A 3 Teslás készülék jelenleg még nem elterjedten alkalmazott, azonban a funkcionális MRI vizsgálatok térhódításával ezek a berendezések helyet fognak kapni a mindennapi vizsgálatok között [Kaul et al., 2006]. Ismeretes, hogy a relaxivitás értékek nagymértékben függenek az alkalmazott mágneses tér erősségétől. A kontrasztanyagok térerősség függése azonban nem lineáris, egy maximum görbével írható le, melynek a maximum értéke az anyagi minőségtől függően más és más [Roch et al., 2005].

Vizsgálataink folyamán 3 térerősséget alkalmaztunk (0,47 T; 1,5 T és 9,4 T). A 1,5 T klinikai MRI mellett  $H^1$ -NMR méréseket is végeztem kétféle NMR készüléken. A mérésekhez ugyanazon mintákat használtam, mint az előző fejezetben tárgyalt kísérletekben. A kiértékelés hasonló módon történt, mint az előzőekben, a görbék illesztéséhez, illetve a T1 és T2 paraméterek meghatározásához a MestRec 4.9.9.9. verziójú NMR adatgyűjtő és feldolgozó programot használtam. A kapott T1 és T2 relaxációk adatait ms-ban kifejezve a II. Függelék 9-13. táblázataiban foglaltam össze.

A 4.6.2.1. ábrán a 0,47 T készüléken mért R1 relaxációs sebességek koncentráció függése látható. Az előző fejezetben tárgyalt 1,5 T MRI készüléken mért adatokkal (4.6.1.3. ábra) összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a koncentrációfüggés ezesetben is lineáris. Ezen a térerősségen is a Resovist adja a legnagyobb jelet és ezt követi a csupasz magnetit, és ismét a Na-oleáttal stabilizált nanorészecskéket tartalmazó mintának van a leggyengébb jele. Ha ezt összehasonlítjuk a legnagyobb, 9,4 T térerősségen mért adatokkal (4.6.2.2. ábra), akkor az egyetlen változás, amit tapasztalunk, hogy a citromsavas stabilizálás esetén nagyobb jelintenzitást kapunk, mint a csupasz magnetit mellett. Azonban ennél a térerősségnél a jel, amit kaptunk sokkal kisebb, mint a másik két esetben, így ezek a különbségek lényegében elhanyagolhatóak.



4.6.2.1. ábra A különböző mágneses folyadékok longitudinális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 0,47 T, 25 °C-on végeztem.



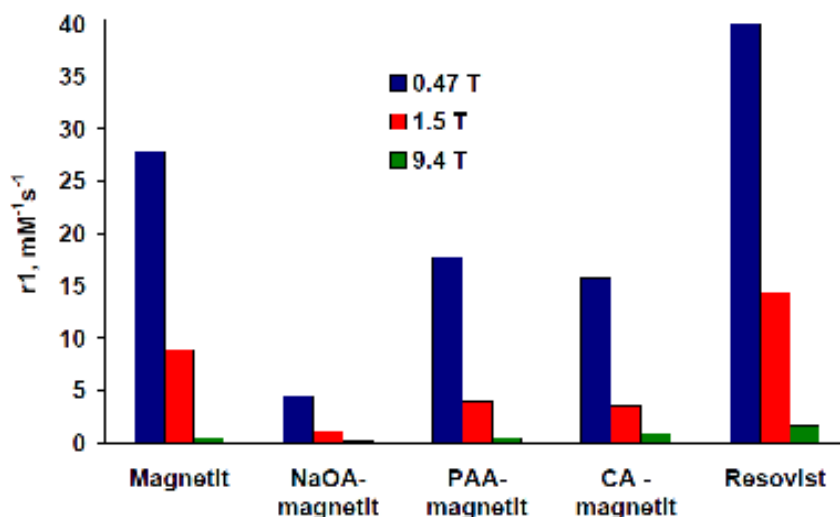
4.6.2.2. ábra A különböző mágneses folyadékok longitudinális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 9,4 T, 25 °C-on végeztem.

A 4.6.2.1. táblázatban, illetve a 4.6.2.3. ábrán látható oszlopdiagrammon összefoglaltam az  $r_1$  relaxivitás adatokat a három különböző térerősség mellett. Ezek alapján megállapítható, hogy a térerősség növekedésével az  $r_1$  relaxivitás értékek drasztikusan lecsökkennek. Figyelembe véve, hogy a szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskéket elsősorban T2-es kontrasztanyagként tervezik felhasználni, nem okozhat problémát az alkalmazás során ez a nagyfokú elvesztés. Azonban érdemes szem előtt tartani, hogy a nagyobb térerősségek miatt kialakuló jobb felbontóképesség elérése nem jár együtt a kontrasztanyagok hatásfokának ugyanolyan mértékű növekedésével.



Minták	0.47 T, 25°C $r_1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	1.5 T, 20°C $r_1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	9.4 T, 25°C $r_1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Magnetit	27.8	8.9	0.5
NaOA-magnetit	4.5	1.1	0.2
PAA-magnetit	17.7	3.9	0.5
CA-magnetit	15.7	3.5	0.8
Gd-DTPA	-	4.7	-
Resovist	40	14.4	1.7

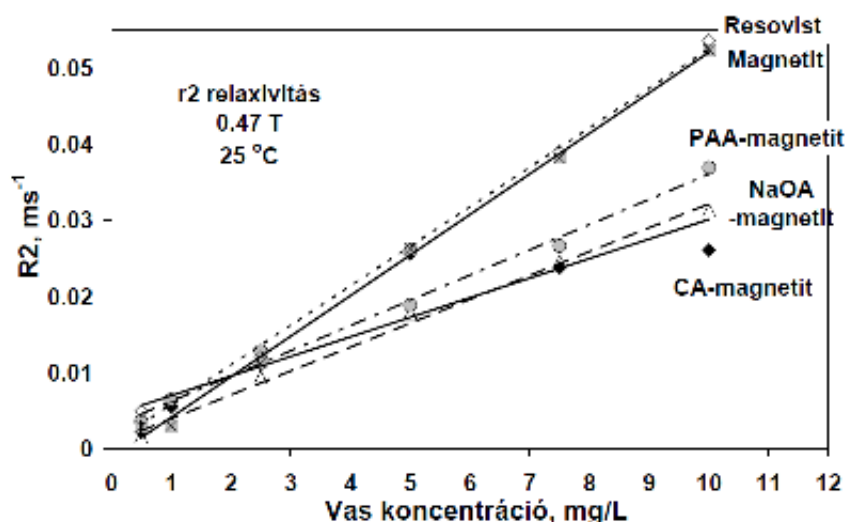
4.6.2.1. táblázat A különböző molekulákkal stabilizált mágneses folyadékok, illetve a Magnavist (Gd-DTPA) különböző térerősségeken mért  $r_1$  relaxivitás adatai.



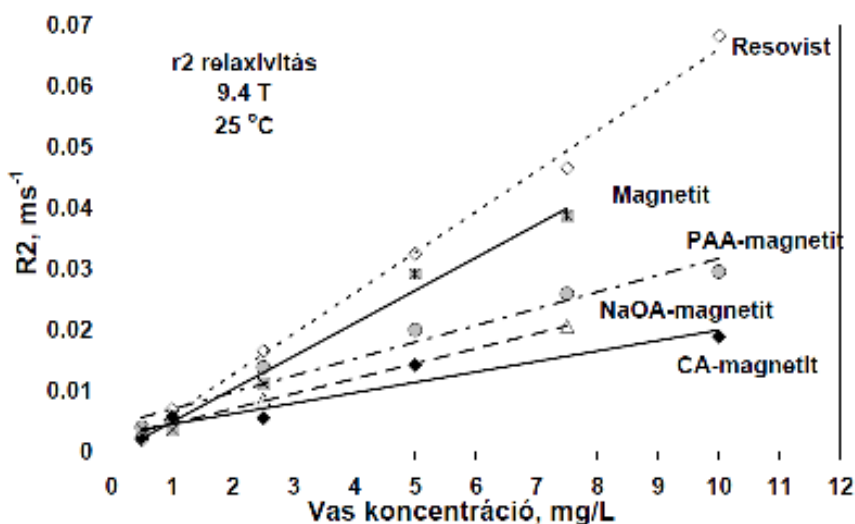
4.6.2.3. ábra A különböző molekulákkal stabilizált mágneses folyadékok  $r_1$  relaxitás értékének változása a térerősséggel.

A T2 relaxációs mérések alatt a 0,47 T térerősségnél kapott eredmények (4.6.2.4. ábra) hasonlóak a 1,5 T MRI készüléken mért eredményekhez (4.6.1.6 ábra). A csupasz magnetit és a Resovist között a különbség elhanyagolhatóvá válik, az általam stabilizált mágneses folyadékok görbéi pedig nagyjából együtt futnak.

A két kisebb térerősségen kapott pontokat összehasonlítva a 9,4 T térerősségnél meghatározottakkal (4.6.2.5. ábra) szembetűnő, hogy a tendencia ebben az esetben sem változik.



4.6.2.4. ábra A különböző mágneses folyadékok transzverzális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 0,47 T, 25 °C-on végeztem.



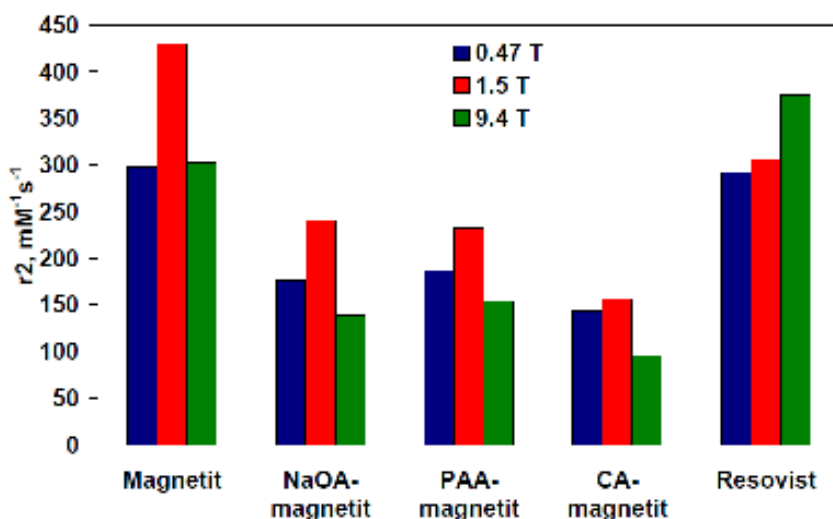
4.6.2.5. ábra A különböző mágneses folyadékok transzverzális relaxációs sebességének ábrázolása a koncentráció függvényében. A vonalak a lineáris illesztést ábrázolják. A méréseket 9,4T, 25 °C-on végeztem.

Minták	0.47 T, 25°C $r_2$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	1.5 T, 20°C $r_2$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	9.4 T, 25°C $r_2$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Magnetit	297.9	429.5	301.8
NaOA-magnetit	176.4	240.2	138.9
PAA-magnetit	186.5	232.4	154
CA-magnetit	143.9	155.7	95.8
Gd-DTPA	-	5.3	-
Resovist	291.8	305.8	374.6

4.6.2.2. táblázat A különböző molekulákkal stabilizált mágneses folyadékok, illetve a Magnavist (Gd-DTPA) különböző térerőségeken mért  $r_2$  relaxitás adatai.

A 4.6.2.2. táblázatban és a 4.6.2.6. ábrán összefoglalt  $r_2$  relaxitás adatokból látható, hogy az  $r_1$  értékekkel ellentétben nem lineáris a változás térerősség függvényében,

hanem egy maximum görbének megfelelő lefutású. A Resovist kivételével mindegyik mágneses folyadék esetén a maximum értéket 1,5 Teslán, vagyis a klinikai MRI készüléken mérve kaptuk. A relaxivitas értékek térerősség függésére Miguel és társai hasonló eredményeket kaptak [Miguel *et al.*, 2007], bár az általuk előállított maghemit részecskék mellett  $r_1$  relaxivitas értékeket 1,5 T fölött egyáltalán nem tudtak meghatározni. Az  $r_2$  relaxivitas értékek maximum függését pedig a külső és belső szférás hidratációs hatással magyarázzák, miszerint mágneses tér hatására a protonok a mágneses maghoz közelebb, illetve a stabilizátor molekula hidrofilitásától függően a stabilizátor réteg belsejében másképpen képesek a részecskék mozgását követni, így módosítva relaxációjukat. A felületmódosított vas-oxidoknál a T2 relaxációk esetén diffúziógátolt, külső szférás hatás az uralkodó [Roch *et al.*, 2005]. A Resovist-nek az adatok alapján lineáris a függése, azonban mivel a 1,5 és a 9,4 T között igen nagy az ugrás a térerősségben, így elképzelhető maximumfüggés ebben az esetben is, csak a maximum érték nem 1,5 T-nál, hanem annál feltételezhetően nagyobb térerősségnél jelentkezik.



4.6.2.6. ábra A különböző molekulákkal stabilizált mágneses folyadékok  $r_2$  relaxivitas értékének változása a térerősséggel.

Néhány mágneses folyadékra, illetve kontrasztanyagra összegyűjtöttem az irodalomban található adatot a 4.6.2.3. táblázatban. A 1,5 T mért PEG-ilált magneto-liposzóma és a fehérjével borított magnetoferritinnel összehasonlítva az eredményeinket megállapítható, hogy az általunk előállított mágneses folyadékok nagyon jól egyeznek az irodalomban található más vas-oxid alapú kontrasztanyagok adataival. Másik két készítmény, a 0,47 Teslán tesztelt Lumirem és a MION (mono iron oxide nanoparticle) esetén viszont az eredményeink jóval felülmúlják az irodalmi adatokat. Itt érdemes kitérni arra az irodalomban [Bonnemain, 1996; Schaeref, 1996; Wang *et al.*, 2001] fellelhető

megállapításra, miszerint az MRI-ben a kontrasztképző hatás akkor a legnagyobb, ha különálló mágneses doméneket stabilizálunk. Azonban ha alaposabban megvizsgáljuk az irodalmi adatokat egyértelműen megállapítható, hogy a monokristályos vas-oxid relaxivitás adatai alig térnek el a jelenleg is alkalmazott Gd-komplexet tartalmazó kontrasztanyagokétól. A nagyobb hidrodinamikai átmérővel rendelkező nanorészecskéket tartalmazó kontrasztanyagok esetében viszont a hatás jóval nagyobb. A stabilizált mágneses folyadékokban, még ha kisebb aggregátumok kerülnek is stabilizálásra az eredmények azt mutatják, hogy mágneses monodoméneket tartalmazó anyagként viselkednek, és így nagyobb kontrasztot befolyásoló effektus figyelhető meg. Ederbeck és munkatársai elméleti háttérrel is alátámasztották, hogy 4-200 nm közötti mágneses mag átmérőjű részecskék a relaxációs mérések során monodomén szerkezetnek megfelelően viselkednek [Ederbeck et al., 2006].

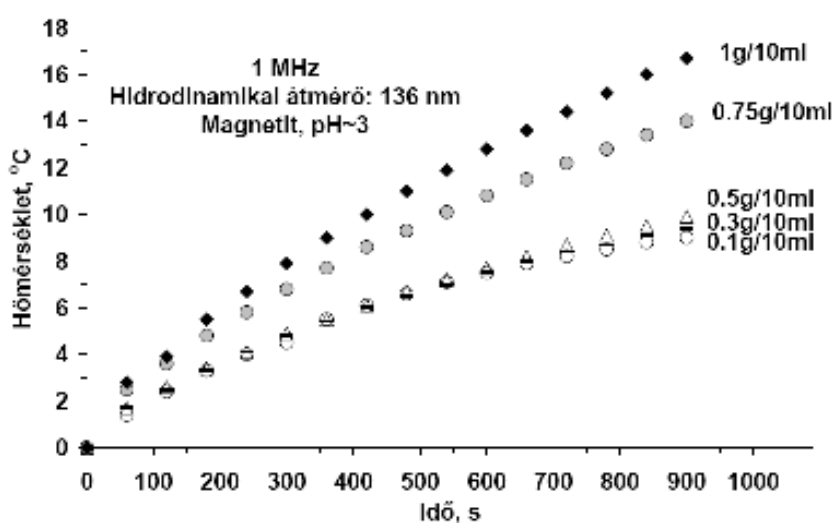
Minták	$r1$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$r2$ (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
Magnevist (1.0 T)	3.4	3.8
Resovist (0.94 T, 62 nm)	12	188
MION (0.47 T)	3.7	6.5
PEG-ilált magneto-liposzóma (1.5 T, 40 nm)	3	240
Fehérjével borított magnetoferritin (1.5 T, 25 °C, 12 nm)	8	218
Lumirem (300 nm, 0.47T)	3.2	72

4.6.2.3. táblázat Az irodalomban található különböző borítással rendelkező mágneses részecskék, illetve a Gd alapú kontrasztanyagok különböző térerősségeken mért relaxivitás adatai [Bonnemain, 1996, Yan et al., 2007, Weissleder et al., 1990].

## 4.7. A mágneses folyadékok hipertermiás hatása

A mágneses folyadékok hipertermiás kísérletei rendelkeznek talán a legrégebbi múlttal az orvos-biológiai alkalmazhatóságok közül. Az irodalmi áttekintésben már kitértem rá, hogy az első cikkek a témakörben 1957 körül íródtak [Gilchrist et al., 1957]. Az alkalmazás azonban mind a mai napig nem megoldott. A legtöbb cikkben nem jutnak tovább a házilag összeállított készüléken való vizsgálódáson [Babincová et al., 2000; Brigger et al., 2002; Saiyed et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; McNeil, 2005; Alexiou et al., 2005; Ito et al., 2007]. Számunkra a mágneses folyadékok váltakozó mágneses tér hatására kiváltott hőeffektusa a teranosztikai alkalmazhatóság miatt volt fontos. Ugyanazokat a mágneses folyadékokat vizsgálva a sejtes, az MRI kontraszt és a hipertermiás kísérletek folyamán egy átfogó képet kaphatunk az általunk előállított és felületmódosított magnetit nanorészecskék felhasználhatóságáról.

Az egyik legnagyobb problémát a hipertermiás alkalmazás során a mágneses folyadékok szuperparamágneses részecskéinek a célterületen történő felhalmozódása jelenti. Pankhurst és munkatársai legújabb összefoglaló cikkükben [[Pankhurst et al., 2009](#)] igen részletesen taglalják a terület hiányosságait és meg nem oldott problémáit. A cikkből kiderül, hogy az intravénás bejuttatás alatt oly mértékű híguláson megy keresztül a mágneses folyadék, mely alkalmatlanná teszi bármiféle érdembeli hőhatás kiváltására a kívánt területen. Közvetlen a tumorba történő beinjektálás pedig csak a könnyebben hozzáférhető szervek, szövetek esetében megoldható. A másik nagy probléma, amire felhívja a figyelmet az a felhalmozódás helyének mélysége a testben, a távolsága a bőrfelülelettől, ahol a mágneset el lehet helyezni. Ezeket a legújabb eredményeket és kétélyeket is figyelembe véve két különböző kísérleti elrendezést állítottunk össze. Az első esetben 1 MHz váltakozó frekvenciájú mágneses tér és 3,3 kA/m átfolyó áram mellett a korábbi cikkeknek [[Pankhurst et al., 2003](#); [Bahadur & Giri, 2003](#); [Mornet et al., 2006](#); [Motoyama et al., 2008](#)] megfelelően vizsgáltuk a különböző mágneses folyadékok hőtermelő hatását. Ezt követően pedig egy kezdetleges összeállítással az elő szerkezetet modellezve, egy állandó hőmérsékletre termosztált vízhűtést alkalmaztunk, 800 kHz frekvenciájú váltakozó mágneses tér és 2,14 kA/m átfolyó áram mellett. Ehhez a kísérleti elrendezéshez nagyon hasonlót épített ki Chen munkatársaival [[Chen et al., 2010](#)]. A termosztát 33-34 °C-ra lett beállítva, mely a testhőmérséklet alatt marad, azonban egy állandó hőmérsékletet biztosít számunkra, illetve modellezi az érpályák hőelvezető hatását az élő rendszerekben, mely a jövőbeni alkalmazáskor, a hipertermiás kezelések ideje alatt szintén létezik.

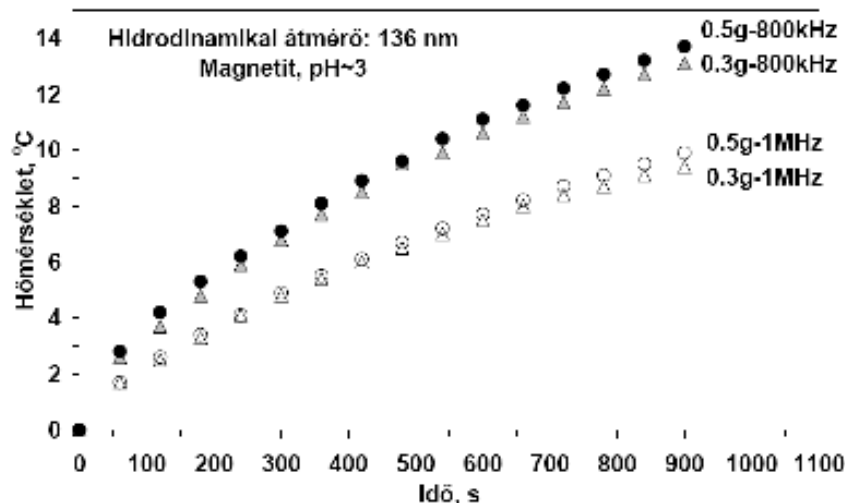


4.7.1. ábra A csupasz magnetit hőtermelő effektusa 0,1 – 1 g/10 ml közötti koncentrációknál, 1 MHz váltakozó mágneses tér és 3,3 kA/m átfolyó áram mellett.

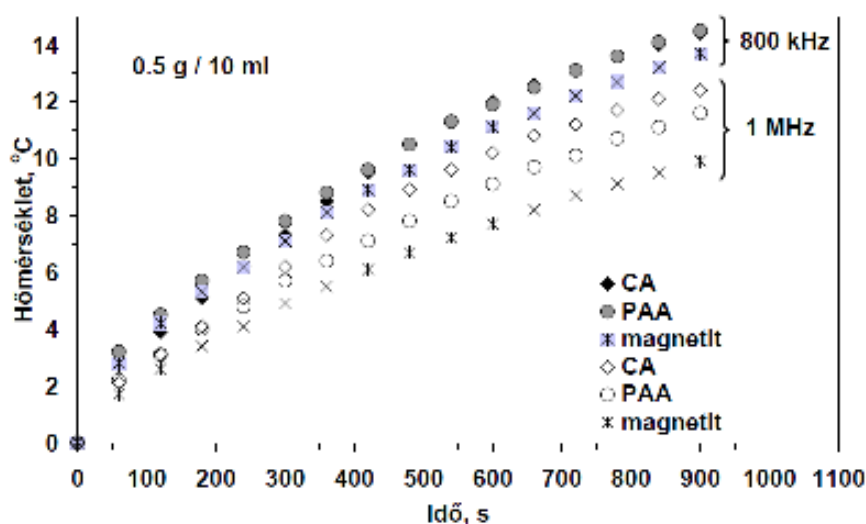
A kísérletek során vizsgáltam mágneses részecskék koncentrációjának hatását a hőfejlődésre az alkalmazott 1 MHz váltakozó mágneses tér jelenlétében, melyet a 4.7.1. ábrán mutatok be. Az ábrán egyértelműen látható, hogy a koncentráció növekedésével a hőeffektus is nő. A görbék az idő előrehaladtával elhajlanak, kb 10 perc után telítési görbe jellegűt vesznek fel. Irodalmi adatokra támaszkodva [*Motoyama et al., 2008; Timko et al., 2009*] az SAR (fajlagos abszorpció mérték) értékek meghatározásához a görbék kezdeti meredekségét használtam. A kapott SAR értékek 2,1 - 10 W/g Fe között változtak, hasonló eredményekre találunk példát az irodalmi adatok igen nagy szórása következtében [*Motoyama et al., 2008*]. A mágneses folyadék abszorbálja a mágneses tértől származó energiát, ami hő formájában disszipálódik. Ez a jelenség kétféleképpen mehet végbe, hiszterézis veszteséssel a mágneses momentum átfordulásakor, vagy a demágneseződéssel járó relaxáció veszteséssel. A mágneses folyadékok relaxációja kétféle mechanizmus segítségével történhet meg, az egyik a Brown relaxáció, a másik a Neél relaxáció. A két relaxáció egyszerre történik meg, és amelyik a gyorsabb, az lesz a meghatározó a hőeffektus kifejtésében [*Skumiel et al., 2007; Timko et al., 2009*].

A minták jellemző SAR értékeit befolyásolja az alkalmazott mágneses tér frekvenciája. A legújabb összefoglaló irodalom [*Pankhurst et al., 2009*] problémaként említi a frekvencia nagyságát is a felhasználás ideje alatt. Míg az állandó mágneses teret a szervezet jól tolerálja, addig a váltakozó tér (1 MHz fölött) hatására végbemenő folyamatok akár végzetesek is lehetnek. Kimutatták a szívizom és a perifériás idegek frekvencia érzékenységet. A szívizom szélesebb tartományban képes tolerálni a váltakozó mágneses teret, mint az idegek, melynek oka egy feltételezett beépített védekező rendszer, mellyel a szervezet a szívet óvja. Természetesen ezek a kalkulációk az egész testet ért behatás esetén érvényesek, ha sikerül lokalizálni a mágneses teret a célterületen, akkor a többi szerv és szövet érintettsége jelentősen lecsökken [*Pankhurst et al., 2009*].

Így méréseinket a kisebb frekvenciájú és az élő rendszert modellező körülmények között folytattuk. A 4.7.2. ábrán mutatom be a két alkalmazott frekvencia közötti különbséget. Látható, hogy mindkét koncentráció esetén a hőeffektus jelentősen megnő ( $\Delta T=4^{\circ}\text{C}$ ) a kisebb frekvenciák alkalmazásakor. Az SAR értékek is növekednek, 2,1 W/g Fe-ről 2,4 W/g Fe-re, illetve 3,4-ről 3,6 W/g Fe-re. Igaz ez még mindig egy nagyságrenddel az irodalmi adatok alatt marad, azonban ennek egyik fő oka a keringő termosztált víz, mely elvezeti a termelődött hőt. Ez az effektus azonban fellép az élő rendszerekben is a vérkeringés hatására, melyet a kísérleti elrendezésünk modellezett.



4.7.2. ábra A csupasz magnetit hőeffektusa 800 kHz frekvenciájú; 2,14 kA/m átfolyó áram és 1 MHz frekvenciájú váltakozó mágneses tér; 3,3 kA/m átfolyó áram mellett.



4.7.3. ábra A magnetit nanorészecskék citromsav (CA) és poliakrilsav (PAA) felületmódosításának hatása a 800 kHz frekvenciájú; 2,14 kA/m átfolyó áram és 1 MHz frekvenciájú váltakozó mágneses tér; 3,3 kA/m átfolyó áram mellett regisztrált hőeffektusra.

MF	Részecskeméret (DLS), nm	SAR, W/g Fe	
		1 MHz	800 kHz
Magnetit	136	2.1	3.3
PAA- magnetit	136*	2.5	3.5
PAA- magnetit	90*	2.5	3.4
CA-magnetit	136*	2.6	3.2
CA-magnetit	90*	2.7	3.2

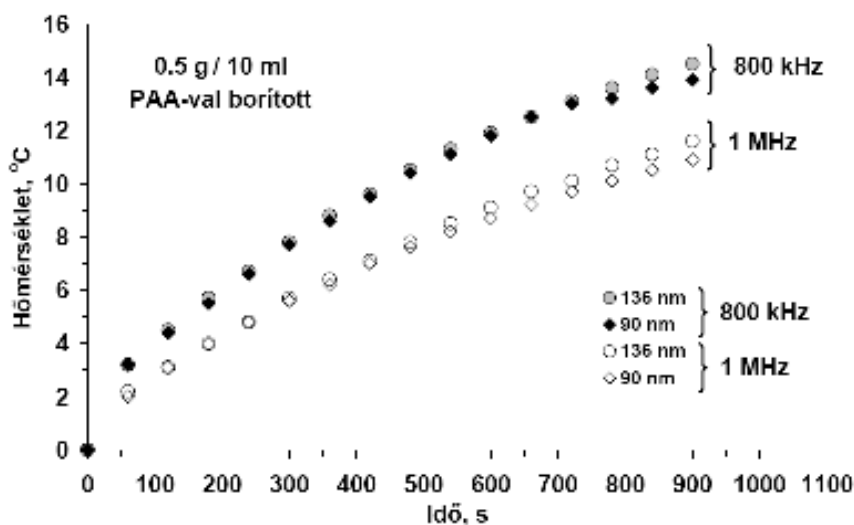
4.7.1. táblázat A különböző részecskemérettel rendelkező, 0,5 mg/mL koncentrációjú mágneses nanorészecskék 1 MHz és 800 kHz váltakozó mágneses tér mellett mért fajlagos abszorpció mérték (SAR) értékei (\*csupasz magnetit mérete borítás előtt).

Ezt követően a mágneses folyadékok előállításánál szükséges felületmódosítás hatását vizsgáltam különböző frekvenciájú váltakozó mágneses terek alkalmazása mellett. A 4.7.3. ábrán a citromsavval és poliakrilsavval stabilizált mágneses folyadékok hőeffektusát hasonlítom össze a csupasz magnetit hőeffektusával. A két frekvencia közötti



különbség ebben az esetben is a fentebb leírt tapasztaltakkal jól harmonizál. Azonban míg a nagyobb frekvenciákon mért esetben a két stabilizátor között az SAR értékekben jelentős eltérést nem tapasztalunk (4.7.1. táblázat), addig a citromsavas stabilizálás esetén 2,6 W/g Fe, poliakrilsav mellett pedig 2,5 W/g Fe értéket kapunk. A kisebb frekvenciáknál megfordul ez az eltérés, és a poliakrilsavra kapunk nagyobb SAR értéket (3,5 W/g Fe, míg a citromsavra csak 3,2 W/g Fe).

Az mágneses folyadékok kontrasztanyagként való alkalmazásának tesztelésénél a T1, T2 relaxációval kapcsolatban a 4.6.2. fejezetben már említettem a mágneses domén szerepének kiemelkedő fontosságát a mágneses tulajdonságra. A mágneses hipertermia során is nagy jelentőséggel bír a domén egység. Ha több domén kapcsolódik össze, akkor a relaxáció eltér attól, mintha csak önállóan lenne jelen. Ezért vizsgáltam a különböző hidrodinamikai átmérővel rendelkező mágneses folyadékok hőeffektusának változását különböző frekvenciák esetén. A 4.7.4. ábrán a poliakrilsavassal stabilizált magnetiten keresztül mutatom be ezt a hatást. Az ábrán a két váltakozó térerősség között az előzőekben már megfigyelt hatás jelentkezett, azonban ahogy a görbék lefutásából is látszik a görbék kezdeti szakaszai szinte teljesen átfedik egymást.

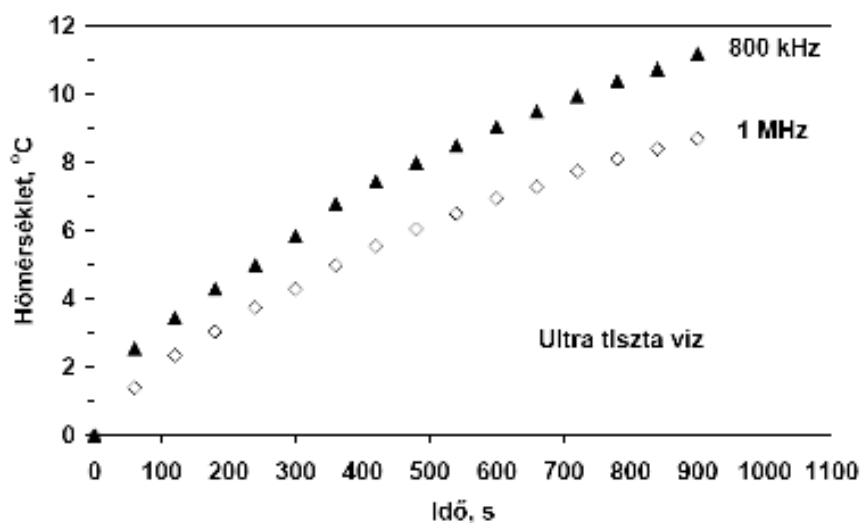


4.7.4. ábra A részecskeméret (átlagos hidrodinamikai átmérő, nm) változásának hatása a hőeffektusra 800 kHz frekvenciájú; 2,14 kA/m átfolyó áram és 1 MHz frekvenciájú váltakozó mágneses tér; 3,3 kA/m átfolyó áram mellett (a hidrodinamikai méretek a kiindulási magnetitre vonatkoznak).

A számított SAR értékeket tekintve mind a poliakrilsavas, mind a citromsavas borítás esetén  $\pm 0,1$  W/g Fe eltéréssel megegyeznek az adatok (4.7.1. táblázat). Pankhurst cikkében kitér a hőeffektust befolyásoló primer részecskeméretre [Pankhurst et al., 2009]. Kísérleti adatokkal és elméleti számolásokkal támasztja alá azon feltevését, mely szerint a primer részecskeméret változásával a kialakult hőeffektus drasztikus változáson megy keresztül. Számításaik és méréseik alapján egy maximumhatás figyelhető meg a 12 nm

körül, a 4-5 nm-es részecskék hőhatása viszont igen alacsony. Ezek az általunk kapott eredményeket jól alátámasztják és arra is magyarázatot adnak miért nem tapasztaltunk jelentős különbséget az azonos 4-5 nm primer részecskeméretű, de eltérő hidrodinamikai átmérővel rendelkező minták között. Az általunk mért SAR értékek jóval alacsonyabbak voltak, mint más kísérleti adatok az irodalomban, az élő rendszerekben várható eredményeket azonban véleményünk szerint jobban közelítik.

A Pankhurst cikkéből [Pankhurst et al., 2009] az is kiderül, hogy 3 mm-es sejtklaszter melegítésére 10-50 mg/ml vaskoncentrációjú mágneses folyadék az ideális, mely jó egyezést mutat az élő rendszert modellező kísérleti elrendezés során alkalmazott koncentrációinkkal. Azonban fontos megemlíteni, hogy az ilyen kisméretű daganatok, áttétek a jelenleg rendelkezésünkre álló képalkotó diagnosztikai módszerekkel nem kimutathatók [Pankhurst et al., 2009]. Így az általunk elvégzett kísérletek alapján is megbizonyosodhatunk, hogy a hipertermiás alkalmazás még további kutatómunkát és műszerfejlesztést igényel. A frekvencia csökkentése és az átfolyó áram erősségének növelése egy következő lépés lehet az optimalizálás esetén, azonban tekintettel kell lenni az élő szervezetben való alkalmazás fentebb tárgyalt korlátaira.



**4.7.5. ábra** Az ultratiszta víz melegedése 800 kHz frekvenciájú; 2,14 kA/m átfolyó áram és 1 MHz frekvenciájú váltakozó mágneses tér; 3,3 kA/m átfolyó áram mellett.

Érdemes megemlíteni még a víz hőeffektusát is. A mágneses nanorészecskék diszpergálására használt ultratiszta (MQ) vizet is teszteltem. A 4.7.5. ábrán látható, hogy a mágneses nanorészecskéket nem tartalmazó rendszer is képes melegedni váltakozó mágneses tér hatására. Az effektus ebben az esetben is a kisebb frekvencia mellett a nagyobb. A víznek a melegítésben szerepet játszó hatására mostanában kezdenek felfigyelni a kutatók. Chen és munkatársai [Chen et al., 2010] a víz szerepét, mint

diszpergáló közeget vizsgálták, azonban a tiszta víz melegedését az általam ismert egyik irodalom sem említi. A jelen kísérleti elrendezésben azonban figyelembe kell vennünk azt a tényt is, hogy a tekercs és a minta közötti tökéletes szigetelés nem megoldott, így a melegedésért maga a tekercs is felelős lehet.

Annak oka, hogy a mágneses folyadékok esetén a víz háttérét nem vonják ki az irodalomban és mi sem vontuk ki egyik esetben sem, feltehetően az, hogy az élő szervezetbe történő bejuttatás során is vizes közegbe oszlatjuk szét a nanorészecskéket, és a közeg melegedése éppúgy nem elhanyagolható, mint a kísérleti körülmények között.

## 5. Összefoglalás

A mágneses folyadékok előállítása, a szuperparamágneses részecskék stabilizálása, diszpergálása, stb. igen nagy múltra tekint vissza, az első vizes közegű MF-ek embereken végzett kísérletei is már több mint 10 éve megtörténtek [Lübbe *et al.*, 1996; 2001], azonban jellemzésükben nagy hiányosságokkal találkozhatunk a szakirodalom áttanulmányozása során.

A szuperparamágneses magnetit nanorészecskék kémiai instabilitását ismerve fontos volt ellenőrizni az általam előállított anyagot. Az előállított magnetit Mössbauer spektroszkópiai méréseiből megállapítottam, hogy nitrogén atmoszféra alatt sikerült magnetit nanorészecskét szintetizálni, illetve azonosítottam, hogy levegő jelenlétében a maghemitté alakulás azonnal megkezdődik. Az irodalomban a részecskék azonosítására gyakran alkalmazott egyik módszer (XRD, TEM, VSM, ATR-FTIR) sem alkalmas egyértelműen különbséget tenni a magnetit és a maghemit nanorészecskék között.

A mágneses részecskék felületét módosítottam 3 különböző, de egységesen karboxilcsoportot tartalmazó stabilizátorral, az ismert komplexképző citromsavval (CA), a makromolekulás poliakrilsavval (PAA), és a felületaktív, amfifil molekulájú Na-oleáttal (NaOA). Így vizsgálhattam a magnetit részecskék felületi helyeivel ( $\equiv\text{FeOH}$ ) elsődlegesen hasonló kémia kölcsönhatásba lépő karboxil vegyületek adszorpciója által létrejött elektrosztatikus, sztérikus, illetve a kombinált elektrosztérikus stabilizálások közti különbséget.

A citromsav adszorpcióját vizsgálva megállapítottam, hogy az adszorpció izoterma nagy affinitású, H-típusú; a citrát 1 vagy 2 karboxilcsoportján keresztül kötődik a felületi  $\equiv\text{FeOH}$  helyekre, víz hídon keresztül, külső szférás komplexképződéssel. A nagy affinitással kötött citrát fajlagos adszorbeált mennyisége  $\sim 0,13$  mmol CA/g magnetit. A CA növekvő egyensúlyi koncentrációjával mért növekvő CA adszorpció adódhat egyrészt a kioldódó felületi Fe-ionok miatt az újabb kötések létrehozására alkalmas helyek felszabadulásából, másrészt a citrát felületi oligomerizációjából. Az előbbi alátámasztja a felülúszók sárgás elszíneződése és nagy koncentrációban megjelenő vastartalma, illetve a magnetizációs görbék telítési értékének csökkenése a citrát koncentrációjának növekedésével, míg az utóbbit az ATR-FTIR spektrumon  $1734\text{ cm}^{-1}$ -nél és  $837\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő csúcsok. A véráramba vitt CA stabilizált MF-ből kiszabaduló vas-citrát komplex jelenléte számos veszélyt foglal magába, így például a vérben jelen lévő kalcium

ionok megkötésével az izom kalcium raktáraiból kiáramló nagymennyiségű ion végzetes izomgörcsöt (tetániát) okozhat a szervezetben.

A PAA adszorpciója L típusú, telítési jellegű izotermát eredményezett, ami a telítést 0,35 mmol/g fajlagos mennyiségnél érte el. A poliakrilsav monodentát formában (egy karboxilcsoport egy  $\equiv\text{Fe-OH}$  csoporthoz orientálódva) kötődik meg a magnetit felületén kemisorpcióval, a felületi OH csoport kicserélődésével (belső szférás komplexképződés), melyet az ATR-FTIR spektrumokon az Fe-OH csúcsok ( $3695\text{ cm}^{-1}$ ) eltűnése mutat. A polimer az adszorpciót követően egyes karboxil csoportjaival megkötődik a felületen, a lánc többi része pedig különböző konformációkat (hurkok, farkak) felvéve vastag sztérikus védőréteget biztosít a nanorészecskéknek. A VSM mérésekből – a magnetizációs görbéknek a csökkenő telítési értékhez való tartása alapján, hasonlóan a citráttal stabilizált rendszerekhez – egyértelműen megállapítottam, hogy poliakrilsav jelenlétében is csökken a magnetit részecskék mágneses magjának mérete az adszorpció során bekövetkező vas kioldódás miatt.

Az amfifil Na-oleát (NaOA) adszorpciója két lépcsőben játszódik le. Az első lépcsőben az oleát karboxilát csoportján keresztül kemisorbeálódik a felületen ( $\sim 1\text{ mmol/g}$ ), ezzel hidrofóbizálva a magnetit részecskéket, majd a második réteget ( $\sim 2\text{ mmol/g}$ ) hidrofób kölcsönhatásokon keresztül alakítja ki (hajtó erő a hidrofób hidratáció). Az amfifil molekulák kettősrétegének felépülést bizonyítja az izotermán megjelenő két lépcső. Az első réteg kemisorpcióját alátámasztja az ATR-FTIR spektrumokon a PAA-hoz hasonlóan a felületi Fe-OH csoportokra jellemző csúcsok eltűnése  $3965\text{ cm}^{-1}$ -nél.

Az elektroforetikus mobilitás mérések bizonyították, hogy a stabilizátorok adszorpciója a magnetit részecskék felületén nagymértékben megváltoztatja azok felületi töltésállapotát úgy, hogy nagy negatív felületi többlettöltést biztosítanak a nanorészecskéknek, elektrosztatikusan stabilizálva a szuszpenziót. A vas-oxid részecskék pH $\sim 6$  mellett pozitív töltésű részecskéinek áttöltődéséhez szükséges anion mennyiségek (CA $\sim 0,15\text{ mmol/g}$ ; PAA $\sim 0,3\text{ mmol/g}$ ; NaOA $\sim 0,75\text{ mmol/g}$ ) jó egyezést mutattak minden esetben az adszorpciós adatokkal. Így a stabilizátorok jelenlétében a fiziológias pH körül széles tartományban nagy negatív felületi töltésű magnetit nanorészecskéket állítottam elő. Az elektroforetikus mobilitás vizsgálatokkal párhuzamosan a részecskék hidrodinamikai átmérőjének változását nyomon követve megfigyeltem, hogy a stabilizátorok alkalmazásával sikerült a pH-független részecskeméretek elérése, azonban míg a citrát és az oleát esetén a kiindulási magnetit nanorészecskék mérete a stabilizálás után nem

változott, addig a poliakrilsavval stabilizált magnetitnek az átlagos részecskemérete a duplájára nőtt, a polielektrolitoknál általában kialakuló vastag adszorpciós réteg miatt.

A magnetit nanorészecskék sótűrésének kolloid stabilitás elmélet szerinti korrekt minősítése és fiziológiás körülmények között ( $\text{pH} \sim 7$ ;  $0,15 \text{ mol/L NaCl}$ ) várható aggregációjának becslése céljából koagulálás kinetikai méréseket végeztem. A hígított rendszerek kritikus koagultató elektrolit koncentráció (c.c.c.) értékei alapján megállapítottam, hogy ezzel minősíthető az adott mágneses folyadék, és arra következtettem, hogy megbecsülhető az *in vitro* körülmények között lejátszódó aggregáció.

Megállapítottam, hogy az adszorbeált citromsav kis molekula révén nem képes elegendően nagy távolságot tartani a mágneses nanorészecskék között, csak elektrosztatikusan stabilizálja a részecskéket, így azok már viszonylag kis koncentrációjú  $\text{NaCl}$  ( $0,07\text{-}0,09 \text{ mol/L}$ ) jelenlétében aggregálódnak. Azonban amikor a magnetit nanorészecskék felületén kettős oleát réteget alakítottam ki, akkor igen nagy ( $0,2\text{-}0,25 \text{ mol/L}$ ) só koncentrációkig nem tapasztaltam aggregációt. A poliakrilsav adszorpcióját követően a kiépült vastag és nagy negatív töltésfelesleggel rendelkező védőréteg hatására a kombinált elektrosztatikus és szterikus stabilizálás olyan mértékű sótűrést tesz lehetővé ( $0,3 \text{ mol/L}$ ), mely sem a citromsav, sem az oleátos kettősréteg esetén nem volt tapasztalható.

A mágneses folyadékok esetleges toxicitásának kizárása érdekében humán adenokarcinóma (HeLa) sejtvonalakon végeztem kísérleteket. A mágneses folyadékok sejtekkel történő kölcsönhatása révén egyértelműen megállapítható, hogy egyik előállított minta sem toxikus és nem akadályozza a sejtek növekedését, tehát antiproliferatív hatással sem rendelkeznek. A citromsavas stabilizáláskor kimutattuk, hogy a nanorészecskék aggregálódtak a kísérleti körülmények között, de ennek ellenére a sejtmembránon képesek voltak áthatolni és a sejtmag környékén felhalmozódni, ahol szintén mikrométeres nagyságrendű aggregátumokat képeztek. Az irodalomban számos olyan cikkel találkozhatunk, mely hasonló effektust ír le nanorészecskék és sejtek kölcsönhatása során [[Pankhurst et al., 2003](#); [Berry & Curtis, 2003](#); [Gupta & Curtis, 2004](#); [Muthana et al., 2008](#)]. A PAA védőréteggel és a NaOA kettősréteggel stabilizált mágneses folyadék esetén azonban ilyen mikroméretű aggregátumok képződését nem tapasztaltuk, így ezek a rendszerek az *in vitro* kísérletekben is megfeleltek a stabilitási kritériumnak.

A mágneses folyadékok MRI kontrasztanyagként történő felhasználását az orvosi-biológiai diagnosztikában, illetve a kontrasztképző hatás térerősség függését vizsgáltam. A

vas-oxid alapú szuszpenziókat elsősorban T2-es kontrasztanyagként tervezik alkalmazni, illetve már jelenleg is forgalomban vannak ilyen típusú kontrasztanyagok (pl.: Resovist). A kísérletek folyamán meghatároztam a csupasz magnetit, a citromsavval, a poliakrilsavval és a Na-oleáttal stabilizált szuszpenziók várható kontrasztképző hatását jellemző  $r_1$  és  $r_2$  relaxivitás értékeit. Az eredmények alapján elmondható, hogy a térerősség növekedésével az  $r_1$  értékek lineárisan csökkennek, és hogy az  $r_2$  értékek egy maximum görbe szerint változnak. A legnagyobb értékeket 1,5 T térerősségnél mértük, mely a jelenleg alkalmazott klinikai MRI készülékek térerősségének felel meg. Megjegyzem, hogy az általam előállított mintákkal ellentétben a Resovist  $r_2$  értékei a térerősség növekedésével nőttek. Az összes általam előállított szuperparamágneses vas-oxid alapú mágneses folyadék  $r_1$  relaxivitása közel azonos értéket ért el, illetve  $r_2$  relaxivitása jóval meghaladta a jelenleg használt Gd alapú kontrasztanyag relaxitását [*Weissleder et al., 1990; Bonnemain, 1996; Schaefer, 1996; Wang et al., 2001; Roch et al., 2005*].

A különféle módon stabilizált szintetikus magnetit nanorészecskék lehetséges diagnosztikai felhasználása mellett a terápiás alkalmazhatóságukat is vizsgáltam mágneses hipertermia mérések segítségével. Az élő rendszerekben uralkodó viszonyok modellezésére összeállított berendezésben végzett kísérletek alapján megállapítható, hogy a termelődött hő mennyisége W/g Fe-ban kifejezve minden esetben jóval kisebb, mint az irodalomban közölt adatok [*Pankhurst et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; Mornet et al., 2006; Motoyama et al., 2008; Timko et al., 2009; Chen et al., 2010*]. Megjegyzem, hogy az általunk összeállított hűtött rendszer modellezi az érpályákban keringő vér hűtő hatását is. Így a tervezett felhasználás során várható effektus megjósolására alkalmas körülményeket teremtettünk.

Az elvégzett kísérletek alapján tehát elmondható, hogy sikeresen előállítottam olyan mágneses folyadékokat, melyek mind diagnosztikai, mind terápiás célra, azaz teranosztikára alkalmas anyagok lehetnek.



## 6. Summary

The synthesis, stabilization and dispersion of magnetic fluids date back to a long time. The first water based magnetic fluid experiments with human patients were done more than 10 years ago [Lübbe *et al.*, 1996; 2001]. However less attention was paid to the characterization of these fluids in the literature.

In the light of the well known chemical instability of the superparamagnetic magnetite, it was necessary to check the synthesized nanoparticles in my work. Mossbauer spectra of the synthetic magnetite showed that the synthesis under nitrogen atmosphere was successful, as the product is magnetite, and also that in the presence of air its transformation to maghemite starts immediately. It turned out that measurements used commonly in the literature (XRD, TEM, VSM, ATR-FTIR) to characterize the synthesized magnetite nanoparticles are unable to distinguish between magnetite and maghemite crystals.

I stabilized the magnetite with 3 different, uniformly carboxylated compounds. One of them is the well-known complexing agent citric acid (CA), the other one is the macromolecular poly(acrylic acid) (PAA), and the third one is the amphiphilic surfactant sodium oleate (NaOA). Hence, I studied the difference between the similar chemical interactions acting between the active sites on the surface of the magnetite nanoparticles and the adsorbed carboxylic groups, which stabilize the magnetite nanoparticles through the electrostatic, steric and the combined electrosteric stabilization.

By measuring CA adsorption on magnetite surface I showed that the adsorption isotherm is of high affinity (H) type; citrate ions adsorbed on the surface by coordinating  $\equiv\text{FeOH}$  sites via one or two of the carboxylate functionalities, through a water bridge with an outer-sphere complexation. The surface coverage reached the high affinity limit at  $\sim 0.13$  mmol CA on 1 g magnetite. The increasing CA adsorption measured with increasing CA equilibrium concentration may be caused by the formation of new binding sites due to the increasing dissolution of surface Fe ions, and also by the surface oligomerization of citrate. The dissolution of Fe(III)-ions from magnetite crystals with increasing CA loading became evident from the rising yellowish color and huge iron concentration of supernatants, and from the decreasing saturation magnetization observed with increasing citrate concentration. The evidence of the CA oligomerization is the observed peaks at  $1734\text{ cm}^{-1}$  and  $837\text{ cm}^{-1}$  in the ATR-FTIR spectras. Some problems related to a possible biomedical application of free iron-citrate complex from citrated ferrofluids are revealed,

for example that citrate can bound to the calcium ions in the blood circulation, leading to the emission of a large amount of calcium from the muscles, which can induce fatal tetany.

Monolayer coverage of magnetite was reached in the presence of  $\sim 0.35$  mmol PAA monomer (COOH) on 1 g magnetite. Poly(acrylate) adsorbed on the surface by coordinating in a monodentate form (via one carboxylate functionality on the  $\equiv\text{FeOH}$  sites) with chemisorption, through the exchange of the surface group  $-\text{OH}$  from the coordination zone of  $\equiv\text{Fe}$  ions on surface (inner-sphere complexation). The evidence of this bond is that the Fe-OH peak ( $3695\text{ cm}^{-1}$ ) disappears after PAA adsorption in the ATR-FTIR spectra. After the adsorption the polymer binds to the surface by some of its carboxylate groups, whilst the rest of the molecule makes hydrophilic loops and tails in the coating to form a thick sterical protecting layer around the nanoparticles. In the presence of poly(acrylic acid) the saturation magnetization curve of magnetite is decreased, because of the iron dissolution from the crystal during the adsorption, in a same way as in the case of citrated magnetic fluids.

The isotherm of the adsorption of the amphiphilic Na-oleate from its aqueous solution is found to exhibit a two step shape. Oleate is chemisorbed at the first layer due to the surface complex formation ( $\sim 1$  mmol NaOA /g magnetite), while the second layer of oleate anions can be adsorbed at the hydrophobic shell of the oriented surfactant molecules of the first layer via hydrophobic interaction ( $\sim 2$  mmol NaOA/ g magnetite). In the ATR-FTIR spectra the same peak disappeared as in the PAA stabilized magnetite spectra at  $3965\text{ cm}^{-1}$ , giving evidence for the chemisorption in the first layer.

The electrophoretic measurements demonstrated that the specific adsorption of anionic stabilizers is able to neutralize the positive charges, and magnetite becomes negatively charged, which will stabilize the suspension electrostatically. The iron-oxide particles, being positively charged at  $\text{pH}\sim 6$  are neutralized by the added stabilizers, the amount of which is in a good agreement with the adsorption coverage ( $\text{CA}\sim 0.15\text{ mmol/g}$ ; PAA $\sim 0.3\text{ mmol/g}$ ; NaOA $\sim 0.75\text{ mmol/g}$ ), then overcharged. Hence, these coated magnetite particles become anionic, and carry a large amount of negative charges, independent of the pH of the aqueous medium in the range of physiologically relevant pH values. By measuring the change of the hydrodynamic diameter I found that the use of the stabilizers leads to a pH independent particle size. However, the particle size of magnetite was not changed in the presence of citrate and oleate, whereas after the adsorption of poly(acrylate) the particle size increased by a factor of two. This thick adsorption layer is typical in the presence of polyelectrolytes.

The enhanced salt tolerance of magnetite nanoparticles was characterized by coagulation kinetic measurements to expect the colloidal stability under physiological conditions (pH~7; 0.15 mol/l NaCl). The critical coagulation concentrations of the diluted samples gave evidence about the behavior of magnetic fluids. On the basis of coagulation kinetics, the differences in aggregation behavior of water based magnetic fluids can be predicted in *in vitro*. I found that the citrate molecule in the adsorbed layer could not protect the magnetic nanoparticles from the adhesion, because the stabilization is only electrostatic, and thus the particles aggregated in a presence of small amount of NaCl (0.07-0.09 mol/l). Nevertheless, aggregation could not be detected if the magnetite was covered with oleate double layer up to 0.2-0.25 mol/l NaCl concentration. PAA can effectively prevent the aggregation of magnetic particles due to the steric and electrostatic repulsive barrier of the ionized layer of polyacrylate coating on magnetite. In the presence of PAA the critical coagulation concentration was found to be 0.3 mol/l, which is much higher than in the case of either citrate or oleate stabilization.

The cytotoxic effect of the magnetic fluids was evaluated using HeLa adenocarcinoma cells. None of the samples demonstrated a pronounced cytotoxic effect against the cell line, or prevented the cell growing, thus, the samples did not find to have any antiproliferative effect. The citrated magnetic fluids did not dispose to significant cytotoxic effect, in spite of the fact that terrifyingly large amount at nanoparticles were able to pass through the cell membrane and internalize in the cell around the nucleus, which was easily visualized by means of a light microscope. In the literature there are a lot of papers which explain the same interaction between the nanoparticles and the cell [[Pankhurst et al., 2003](#); [Berry & Curtis, 2003](#); [Gupta & Curtis, 2004](#); [Muthana et al., 2008](#)]. Further, the magnetic fluid stabilized with poly(acrylate) or oleate double layer did not show micron sized aggregates after the interaction with the cells, thus, these samples satisfy the stability criteria *in vitro*.

As a potential the biomedical application, magnetic fluids can be used in MRI diagnostic as a contrast agents. I measured the contrast effect in MRI and the field strength dependence of magnetic response. The iron-oxide based suspensions are planned to be primarily used as T2 contrast agents, moreover, some contrast agents of this type (e.g., Resovist) are already in commercial use.

I determined the  $r_1$  and  $r_2$  relaxivities of the synthetic naked as well as of, the citrate, poly(acrylate) and oleate double layer covered magnetites, which can predict the contrast effect of these samples. The results showed that both  $r_1$  and  $r_2$  relaxivities depend

characteristically on the magnetic field. Increasing field strength induces the decline in  $r_1$  relaxivity values, while the  $r_2$  values show a maximum curve. It is worth noting that our magnetic fluids have a maximum  $r_2$  relaxivities at field strength around 1.5 T, where most of the MRI apparatus work worldwide. Comparing the  $r_2$  relaxivity parameters of our stabilized magnetic fluids to that of Resovist, the significant difference is obvious, since Resovist  $r_2$  relaxivities values increase with increasing field strengths. The  $r_1$  relaxivities of all the magnetic nanoparticles prepared by myself were found to be in the same order of magnitude as that of Gd-chelates, while the  $r_2$  relaxivity values considerably exceeded those of the Gd-complexes, which are the most commonly used T1 MR contrast agents nowadays [*Weissleder et al., 1990; Bonnemain, 1996; Schaefer, 1996; Wang et al., 2001; Roch et al., 2005*].

Besides the problems selected to the possible diagnostic use of the stabilized synthetic magnetite nanoparticles, I also measured the magnetic hyperthermic heating effect of the samples. I made the measurements for a model system, in which the circumstances in the living system were simulated. My samples found to have a smaller heating effect in W/g Fe as compared to results in the literature [*Pankhurst et al., 2003; Bahadur & Giri, 2003; Mornet et al., 2006; Motoyama et al., 2008; Timko et al., 2009; Chen et al., 2010*]. It should be noted, however, that the cooled system used in our measurements can effectively model the cooling effect of blood in the blood circulation system. Hence our simple model system seems to be able to predict the effect expected in the planned biomedical application.

To summarize my results, I prepared synthetic magnetic fluids which could be promising samples in the therapy and diagnostic in the future, thereby a hopeful theranostic agent.

## Irodalomjegyzék

- Alexiou C., Arnold W., Hulin P., Klein R. J., Renz H., Parak F. G., Bergemann C., Lübke A. S.: Magnetic mitoxantrone nanoparticle detection by histology, X-ray and MRI after magnetic tumor targeting, *J. Magn. Magn. Mater.* 225, (2001), 187–193
- Alexiou C., Jurgons R., Schmid R., Hilpert A., Bergemann C., Parak F., Iro H.: In vitro and in vivo investigations of targeted chemotherapy with magnetic nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.* 293, (2005), 389–393
- Atkins P. W.: *Fizikai Kémia II.*, Tankönyvkiadó, Budapest, (1992)
- Avdeev M. V., Balasoïu M., Aksenov V. L., Garamus V. M., Kohlbrecher J., Bica D., Vekas L.: On the magnetic structure of magnetite/oleic acid/benzene ferrofluids by small-angle neutron scattering, *J. Magn. Magn. Mater.* 270, (2004), 371–379
- Babincová M., Sourivong P., Leszczynska D., Babinec P.: Blood-specific whole-body electromagnetic hyperthermia. *Med Hypotheses* 55 (6), (2000), 459–460
- Babos Magor: A bélrendszer MR vizsgálatában alkalmazható impulzusszekvenciák optimalizálása és endoluminális kontrasztanyagok tanulmányozása, Doktori (Ph.D.) értekezés, Szeged, (2006)
- Bahadur D., Giri J.: Biomaterials and magnetism, *Sādhana* 28 (3-4), (2003), 639–656
- Bauer Andrea Rita: Magnetit előállítás, jellemzése, mágneses szeparálása, Szakdolgozat, Szeged, (2009)
- Bee A., Massart R., Neveu S.: Synthesis of very fine maghemite particles, *J. Magn. Magn. Mater.* 149, (1995), 6-9
- Berry C. C., Curtis A. S. G.: Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36, (2003), R198–R206
- Berry C. C.: Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine, Topical review, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 42, (2009), 224003, (9pp)
- Bica D., Vékás L., Avdeev M. V., Marinica O., Balasoïu M., Garamus V. M.: Sterically stabilized water based magnetic nanofluids: synthesis, structure and properties, *J. Magn. Magn. Mater.* 311, (2007), 17-21
- Blanco-Mantecona M., O’Grady K.: Interaction and size effects in magnetic nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.* 296, (2006), 124–133
- Blue L. M., Sewel M. K., Kim D. H., Brazel C. S.: Fluid Dynamics and Heating of Magnetic Nanoparticles in Simulated Blood Vessels, *Journal of Science & Health at the University of Alabama*, (2009), 25-28

- Bokor Ferenc, Szeless László: Állandómágnesek és alkalmazásaik, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, (1975)
- Bonnemain B.: Superparamagnetic and blood pool agents, Spotlights on clinical MRI, In V.L.C., Maffliers, France, (1996), 75-82
- Borer P., Hug S. J., Sulzberger B., Kraemer S. M., Kretzschmar R.: Photolysis of Citrate on the Surface of Lepidocrocite: An in situ Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy Study, J. Phys. Chem. C 111, (2007), 10560-10569
- Brigger I., Dubernet C., Couvreur P.: Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. Adv. Drug. Deliv. Rev. 54, (2002), 631–651
- Bronstein L. M., Huang X., Retrum J., Schmucker A., Pink M., Stein B. D., Dragnea B.: Influence of Iron Oleate Complex Structure on Iron Oxide Nanoparticle Formation, Chem. Mater. 19, (2007), 3624-3632
- Burger Kálmán, Beck Mihály: Újabb eredmények a komplex egyensúlyok vizsgálatában; A Mössbauer-spektroszkópia alkalmazása a komplexkémiaiában, Akadémiai Kiadó, Budapest, (1972)
- Burger Kálmán: Az analitikai kémia alapjai: Kémiai és műszeres elemzés, Semmelweis kiadó, Budapest, (1999)
- Butter K.: Iron (oxide) ferrofluids: synthesis, structure and catalysis, Postgradual paper, (2003)
- Châtel P. F., Nándori I., Hakl J., Mészáros S., Vad K.: Magnetic particle hyperthermia: Néel relaxation in magnetic nanoparticles under circularly polarized field, J. Phys.: Condens. Matter 21, (2009), 124202 (8pp),
- Chen K., Bakuzis A. F., Luo W.: Improving surfactant grafting in magnetic colloids, Appl. Surf. Sci. 252, (2006), 6379–82
- Chen S., Chiang C. L., Hsieh S.: Simulating physiological conditions to evaluate nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia(MFH) therapy applications, J. Magn. Mater. 322, (2010), 247–252
- Cornell R. M., Schwertmann U.: The iron oxides, Structure, Properties, Reactions, Occurences and Uses, WILEY-VCH, Weinheim, (2003)
- Cornell R. M., Schwertmann U.: The Iron Oxides, VCH, Weinheim,(1996)
- da Costa G. M., De Grave E., de Bakker P. M. A., Vandenberghe R. E.: Synthesis and Characterization of Some Iron Oxides by Sol-Gel Method, J. Solid State Chem. 113 (2), (1994), 405-412

- Eberbeck D., Wiekhorst F., Steinhoff U., Trahms L.: Aggregation behaviour of magnetic nanoparticle suspensions investigated by magnetorelaxometry, *J. Phys.: Condens. Matter* 18, (2006), S2829–S2846
- Elimelech M., Gregory J., Jia X., Williams R. A.: Particle Deposition and Aggregation: Measurement, Modelling and Simulation. Butterworth, Oxford, (1995)
- Elmore W. C.: Ferromagnetic Colloid for Studying Magnetic Structures, *Phys. Rev.* 54, (1938), 309-310 (BME Zrinyi Miklós/ Barsi László által módosított Elmore recept)
- Everett D. H.: Basic Principles of Colloid Science, RSC, London, (1988)
- Everett D. H.: Reporting data on adsorption from solution at the solid/solution interface, *Pure Appl. Chem.* 58, (1986), 967-984
- Fauconnier N., Bée A., Roger J., Pons J. N.: Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface complexation of maghemite nanoparticles, *J. Mol. Liq.* 83, (1999), 233-242
- Feng B., Hong R. Y., Wu Y. J., Liu G. H., Zhong L. H., Zheng Y., Ding J. M., Wei D. G.: Synthesis of monodisperse magnetite nanoparticles via chitosan-poly (acrylic acid) template and their application in MRI, *J. Alloy. Compd.* 473 (1-2) (2009), 356-362,
- Foner S.: Versatile and Sensitive vibrating-sample magnetometer, *Rev. Sc. Instr.* 30, (1959), 548-57
- Foner S.: Vibrating sample magnetometer, *Rev. Sci. Instr.* 21, (1956), 548
- Furia T. E.: Sequestrants in Foods, *CRC Handbook of Food Additives*, 2nd ed, (1972),  
Online elérhető: URL: [http://george-eby-research.com/html/stability\\_constants.html](http://george-eby-research.com/html/stability_constants.html)
- Gamarra L. F., Pavon L. F., Marti L. C., Pontuschka W. M., Mamani J. B., Carneiro S. M., Camargo-Mathias M. I., Moreira-Filho C. A., Amaro E. Jr.: In vitro study of CD133 human stem cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles, *Nanomedicine: NBM* 4, (2008), 330–339
- Ge J., Hu Y., Yin Y.: Highly Tunable Superparamagnetic Colloidal Photonic Crystals, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46, (2007), 7428 –7431
- Gilchrist R. K., Medal R., Shorey W. D., Hanselman R. C., Parrott J. C., Taylor C. B.: Selective Inductive Heating of Lymph Nodes, *Ann. Surg.* 146, (1957), 596–606
- Giles C. H., Smith D., Huitson A.: A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm, *J. Colloid. Interf. Sci.* 47 (3), (1974) 755-765
- Gomez-Lopera S. A., Plaza R. C., Delgado A. V.: Synthesis and Characterization of Spherical Magnetite/Biodegradable Polymer Composite Particles, *J. Colloid. Interf. Sci.* 240, (2001), 40-47



- Gonzalez C. E., Pusiol D. J., Ramia M., Bee A., Bourdon A., Figueiredo Neto A. M.: Water dynamics in ionic magnetic colloids studied by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance, *Physica B* 320, (2002), 226–229
- Goodarzi A., Sahoo Y., Swihart M. T., Prasad P. N.: Aqueous Ferrofluid of Citric Acid Coated Magnetite Particles, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* 789, (2004) 6.6.1-6.6.6
- Gotić M., Koščec G., Musić S.: Study of the reduction and reoxidation of substoichiometric magnetite, *J. Mol. Struct.* 924–926, (2009), 347–354
- Gupta A. K., Curtis A. S. G.: Lactoferrin and ceruloplasmin derivatized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeting cell surface receptors, *Biomaterials* 25, (2004), 3029–3040
- Gupta A. K., Gupta M.: Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials* 26, (2005), 3995–4021
- Haddad P. S., Martins T. M., D'Souza-Li L., Li L. M., Metze K., Adam R. L., Knobel M., Zanchet D.: Structural and morphological investigation of magnetic nanoparticles based on iron oxides for biomedical applications, *Mat. Sci. Eng. C* 28, (2008), 489–494
- Hajdú A., Tombácz E., Illés E., Bica D., Vékás L.: Magnetite nanoparticles stabilized under physiological conditions for biomedical application, *Progr. Colloid Polym. Sci.* 135, (2008), 29–37
- Hamaker H. C.: London-Van der Waals attraction between spherical particles, *Physica* 4, (1937), 1058-1072.
- He Y. T., Wan J., Tokunaga T.: Kinetic stability of hematite nanoparticles: the effect of particle sizes, *J. Nanopart. Res.* 10, (2008), 321–332
- Hevesi Imre: *Elektromosságtan*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, (1998)
- Hofmann A., Liang L.: Mobilization of colloidal ferrihydrite particles in porous media—An inner-sphere complexation approach, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71, (2007), 5847–5861
- Holthoff H., Egelhaaf S. U., Borkovec M., Schurtenberger P., Sticher H.: Coagulation rate measurements of colloidal particles by simultaneous static and dynamic light scattering, *Langmuir* 12, (1996), 5541-5548.
- Hong R. Y., Feng B., Chen L. L., Liu G. H., Li H. Z., Zheng Y., Wei D. G.: Synthesis, characterization and MRI application of dextran-coated  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetic nanoparticles, *Biochem. Eng. J.* 42, (2008), 290–300

- Hong R. Y., Zhang S. Z., Han Y. P., Li H. Z., Ding J., Zheng Y.: Preparation, characterization and application of bilayer surfactant-stabilized ferrofluids, *Powder Technol.* 170, (2006), 1–11
- Hore P.J.: *Mágneses magrezonancia*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, (2004)
- Hunter R. J.: *Foundations of Colloid Science*, Clarendon Press, Oxford, (1987)
- Hunter R. J.: *Zeta potential in Colloid Science Principles and Applications*, Academic Press, London, (1988)
- Illés E., Tombácz E.: The effect of humic acid adsorption on pH-dependent surface charging and aggregation of magnetite nanoparticles, *J. Colloid. Interf. Sci.* 295, (2006), 115-123
- Illés E., Tombácz E.: The role of variable surface charge and surface complexation in the adsorption of humic acid on magnetite, *Coll. Surf. A: Physchem. Eng. Asp.* 230, (2003), 99-109
- Illés Erzsébet: Huminsav adszorpciójának hatása magnetit nanorészecskék aggregációjára, *Diplomadolgozat*, Szeged (2001)
- Ito A., Kobayashi T., Honda H.: Heat immunotherapy with heat shock protein expression by hyperthermia using magnetite nanoparticles, *Ann. Cancer Res. Therap.* 15 (2), (2007), 27-34
- Jain T. K., Morales M. A., Sahoo S. K., Leslie-Pelecky D. L., Labhasetwar V.: Iron Oxide Nanoparticles for Sustained Delivery of Anticancer Agents, *Mol. Pharm.* 2 (3), (2005), 194-205
- Jain T. K., Richey J., Strand M., Leslie-Pelecky D. L., Flask C. A., Labhasetwar V.: Magnetic nanoparticles with dual functional properties: Drug delivery and magnetic resonance imaging, *Biomaterials* 29, (2008), 4012–4021
- Jones F., Farrow J. B., van Bronswijk W.: An Infrared Study of a Polyacrylate Flocculant Adsorbed on Hematite, *Langmuir* 14, (1998), 6512-6517
- Kallay N., Matijević E.: Adsorption at solid/solution interfaces. 1. Interpretation of surface complexation of oxalic and citric acids with hematite, *Langmuir* 1, (1985), 195-201
- Kaul M. G., Bigall N., Bruns O. T., Ittrich H., Nikolic M. S., Parak W. J., Dahnke H., Weller H., Adam G.: Relaxometry of new nanoparticles at 3 Tesla: Effect of core size and coating on  $r_1$ ,  $r_2$ ,  $r_2^*$ , *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 14, (2006), 1819
- Kaušaitė A., Ramanavičienė A., Ramanavičius A.: Application of immobilized citrate lyase in a bioanalytical system for determination of citrates, *Chemija* 19 (2), (2008), 9-12

- Kirwan L. J., Fawell P. D., van Bronswijk W.: An in Situ FTIR-ATR Study of Polyacrylate Adsorbed onto Hematite at High pH and High Ionic Strength, *Langmuir* 20 (10), (2004), 4093-4100 doi: 10.1021/la036248u
- Korolev V. V., Ramazanova A. G., Blinov A. V.: Adsorption of surfactants on superfine magnetite, *Russian Chemical Bulletin, International Edition* 51 (11), (2002), 2044-2049
- Lacava L. M., Garcia V. A. P., Kuckelhaus S., Azevedo R. B., Sadeghiani N., Buske N., Morais P. C., Lacava Z. G. M.: Long-term retention of dextran-coated magnetite nanoparticles in the liver and spleen. *J. Magn. Magn. Mater.* 272-276, (2004), 2434-2435
- Lackovic K., Angove M. J., Wells J. D., Johnson B. B.: Modeling the adsorption of Cd(II) onto goethite in the presence of citric acid, *J. Colloid Interf. Sci.* 269, (2004), 37-45
- Leslie-Pelecky D., Labhasetwar V., Kraus R. H. Jr., *Nanobiomagnetics, Advanced Magnetic Nanostructures*, Springer, Chapter 15, (2006) pp.461-490
- Liao M. H., Chen D. H.: Preparation and characterization of a novel magnetic nano-adsorbent, *J. Mater. Chem.* 12, (2002), 3654-3659
- Lin C. L., Lee C. F., Chiu W. Y.: Preparation and properties of poly(acrylic acid) oligomer stabilized superparamagnetic ferrofluids, *J. Colloid. Interf. Sci.* 291, (2005), 411-420
- Liu T. Y., Hu S. H., Hu S. H., Tsai S. P., Chen S. Y.: Preparation and characterization of thermal-sensitive ferrofluids for drug delivery application, *J. Magn. Magn. Mater.* 310, (2007), 2850-2852
- Liu T. Y., Hu S. H., Liu D. M., Chen S. Y., Chen I. W.: Biomedical nanoparticle carriers with combined thermal and magnetic responses. *Nano Today* 4, (2009), 52-65
- López-López M. T., Durán J. D. G., Delgado A.V., González-Caballero F.: Stability and magnetic characterization of oleate-covered magnetite ferrofluids in different nonpolar carriers, *J. Colloid. Interf. Sci.* 291, (2005), 144-151
- Lübbe A. S., Alexiou C., Bergemann C.: Clinical applications of magnetic drug targeting, *J. Surg. Res.* 95, (2001), 200-206
- Lübbe A. S., Bergemann C., Huhnt W., Fricke T., Riess H., Brock J. W., Huhn D.: Preclinical Experiences with Magnetic Drug Targeting: Tolerance and Efficacy, *Cancer Res.* 56, (1996), 4694-4701
- Lyklema J.: *Fundamentals of Interface and Colloid Science, Vol. II: Solid-Liquid Interfaces*, Academic Press, London, (1995)

- Lyklema J.: Structure of solid/liquid interface and the electrical double layer, Ch.3, In: Solid/liquid Dispersions, ed. Tadros, Th.F. , Academic Press, London, (1987)
- Martos János, Zaránd Pál: MRI: forradalmi változás az orvosi képi diagnosztikában, A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztálya 2000. május 10-én a 2000. évi közgyűléshez kapcsolódóan A MAGYARORSZÁGI KÉMIA címmel tartott ülést. (<http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/kemia/zarand/zarand.html>)
- McKeehan L. W.: Optical and Magnetic Properties of Magnetite Suspensions, Surface Magnetization in Ferromagnetic Crystals, Phys. Rev. 57, (1940), 1177-1178
- McNeil S. E.: Nanotechnology for the biologist, J. Leukocyte Biol. 78, (2005), 585-594
- McRobbie D. W., Moore E. A., Graves M. J., Prince M. R.: MRI from Picture to Proton, Cambridge University Press, United Kingdom, (2003)
- Mehra O. P., Jackson M. L.: Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite–citrate system buffered with sodium bicarbonate, Clay. Clay. Miner. 7, (1960), 317–327
- Metcalfé E.: Atomic adsorption and emission spectroscopy, Crown Copyright, (1987), 209-222
- Miguel O. B., Gossuin Y., Morales M. P., Gillis P., Muller R. N., Veintemillas-Verdaguer S.: Comparative analysis of the  $^1\text{H}$  NMR relaxation enhancement produced by iron oxide and core-shell iron–iron oxide nanoparticles, Magn. Reson. Imaging 25, (2007), 1437–1441
- Mihály J., Sterkel S., Ortner H. M., Kocsis L., Hajba L., Furdyga É., Mink J.: FTIR and FT-Raman Spectroscopic Study on Polymer Based High Pressure Digestion Vessels, Croat. Chem. Acta 79 (3), (2006), 497-501
- Morcos S. K.: Nephrogenic systemic fibrosis following the administration of extracellular gadolinium based contrast agents: is the stability of the contrast agent molecule an important factor in the pathogenesis of this condition?, Brit. J. Radiol. 80, (2007), 73–76
- Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Duguet E.: Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy, J. Mater. Chem. 14, (2004), 2161–2175,
- Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Veverka P., Goglio G., Demourgues A., Portier J., Pollert E., Duguet E.: Magnetic nanoparticle design for medical applications, Progr. Solid State Ch. 34, (2006), 237-247
- Mosmann T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, J. Immunol Methods 65, (1983), 55-63

- Motoyama J., Hakata T., Kato R., Yamashita N., Morino T., Kobayashi T., Honda H.: Size dependent heat generation of magnetite nanoparticles under AC magnetic field for cancer therapy, *BioMag. Res. Technol.* 6 (4), (2008), 1-9
- Munnier E., Cohen-Jonathan S., Linassier C., Douziech-Eyrolles L., Marchais H., Soucé M., Hervé K., Dubois P., Chourpa I.: Novel method of doxorubicin–SPION reversible association for magnetic drug targeting, *Int. J. Pharm.* 363, (2008), 170–176
- Muthana M., Scott S. D., Farrow N., Morrow F., Murdoch C., Grubb S., Brown N., Dobson J., Lewis C. E.: A novel magnetic approach to enhance the efficacy of cell-based gene therapies, *Gene Therapy* 15, (2008), 902–910
- Mürbe J., Rechtenbach A., Töpfer J.: Synthesis and physical characterization of magnetite nanoparticles for biomedical applications, *Mater. Chem. Phys.* 110, (2008), 426–433
- Nyergesné Illés Erzsébet: Huminsavak és magnetit nanorészecskék kölcsönhatása: a talajoktól a mágneses folyadékokig, Doktori (Ph.D.) értekezés, Szeged, (2005)
- Odenbach S.: Ferrofluids-magnetically controlled suspensions, *Colloids Surface A* 217 (2003), 171–178
- Odenbach S.: Magnetoviscous effects in ferrofluids, Springer LNP m71, Berlin, New York, (2002)
- Pankhurst Q. A., Connolly J., Jones S. K., Dobson J.: Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J. Phys. D Appl. Phys.* 36, (2003), R167–R181
- Pankhurst Q. A., Thanh N. K. T., Jones S. K., Dobson J.: Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, Topical review, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 42, (2009), 224001 (15pp)
- Pardoe H., Chua-anusorn W., Pierre T. G. St., J. Dobson: Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol, *J. Magn. Magn. Mater.* 225, (2001), 41-46
- Park J. Y., Choi E. S., Baek M. J., Lee G. H.: Colloidal stability of amino acid coated magnetite nanoparticles in physiological fluid, *Mater. Lett.* 63, (2009), 379–381
- Pecora R.: *Dynamic Light Scattering. Applications of Photon Correlation Spectroscopy* Plenum Press, New York, (1985)
- Petrarulo M., Facchini P., Cerelli E., Marangella M., Linari F.: Citrate in Urine Determined with a New Citrate Lyase Method, *Clin. Chem.* 41, (1995), 1518-1521
- Pungor Ernő Dr.: *Analitikai kémia, Műegyetemi Kiadó*, (1993)
- Răcuciu M., Creang D. E. , Airinei A.: Citric-acid-coated magnetite nanoparticles for biological applications, *Eu.r Phys. J. E* 21, (2006), 117-121

- Réthy B., Csupor- Löffler B., Zupkó I., Hajdú Zs., Imre M., Hohmann J., Rédei T., Falkay G.: Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part I., *Phytother. Res.* 73, (2007), 41-48
- Roch A., Gossuin Y., Muller R. N., Gillis P.: Superparamagnetic colloid suspensions: Water magnetic relaxation and clustering, *J. Magn. Magn. Mater.* 293, (2005), 532–539
- Sahoo Y., Goodarzi A., Swihart M. T., Ohulchanskyy T. Y., Kaur N., Furlani E. P., Prasad P. N.: Aqueous Ferrofluid of Magnetite Nanoparticles: Fluorescence Labeling and Magnetophoretic Control, *J. Phys. Chem. B* 109, (2005), 3879-3885
- Saiyed Z. M., Telang S. D., Ramchand C. N.: Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine, *BioMag. Res. Techn.* 1 (2), (2003), pp 8
- Schaefer M.: Non specific contrast media, *Spotlight on Clinical MRI*, V.L.C., Maffliers, France (1996) 5–17
- Scherer C., Figueiredo Neto A. M.: Ferrofluids: Properties and Applications, *Braz. J. Phys.* 35 (3A), (2005), 718–727
- Schudel M., Behrens S. H., Holthoff H., Kretzschmar R., Borkovec M.: Absolute Aggregation Rate Constants of Hematite Particles in Aqueous Suspensions: A Comparison of Two Different Surface Morphologies, *J. Colloid. Interf. Sci.* 196, (1997), 241–253
- Shaw D. J.: Bevezetés a kolloid- és felületi kémiába, Műszaki könyvkiadó, Budapest, 1986
- Shen L., Laibinis P. E., Hatton T. A.: Bilayer Surfactant Stabilized Magnetic Fluids: Synthesis and Interactions at Interfaces, *Langmuir* 15, (1999), 447–53
- Si S., Kotal A., Mandal T. K., Giri S., Nakamura H., Kohara T.: Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles in the Presence of Polyelectrolytes, *Chem. Matter.* 16, (2004), 3489-3496
- Şincai M., Deleanu L., Argherie D., Bica D.: The effects of magnetic fluids on blood parameters in dogs, *J. Magn. Magn. Mater.* 252, (2002), 406–408
- Skumiel A., Józefczak A., Timko M., Kopčanský P., Herchl F., Koneracká M., Tomašovičová N.: Heating Effect in Biocompatible Magnetic Fluid, *Int. J. Thermophys.* 28 (5)(2007), 1461-1469
- Sohár Pál: Az NMR sztori, A Kémiai Tudományok Osztályának az MTA 2004. évi közgyűléséhez kapcsolódó ülésén („Az NMR spektroszkópia a tudományok szolgálatában.”) 2002. május 7.-én elhangzott előadás nyomán

- Sposito G.: Environmental Particles, eds. J. Buffle, H.P. van Leeuwen, Vol.1, Lewis, Boca Raton, Ch. 7. (1992)
- Stark D. D., Bradley W. G., Bradley, W. G. Jr.: Magnetic Resonance Imaging, C. V. Mosby, (1999)
- Sun J., Zhou S., Hou P., Yang Y., Weng J., Li X., Li M.: Synthesis and characterization of biocompatible Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, J. Biomed. Mater. Res. A 80(2) (2006), 333-341
- Sun Y., Ma M., Zhang Y., Gu N.: Synthesis of nanometer-size maghemite particles from magnetite, Colloid Surface A: Physicochem. Eng. Aspects 245, (2004), 15–19
- Sun Z., Su F., Forsling W., Samskog P.: Surface Characteristics of Magnetite in Aqueous Suspension, J. Colloid. Interf. Sci. 197 (1), (1998), 151-9
- Svoboda J., Zofka J.: Magnetic flocculation in secondary minimum, J. Colloid. Interf. Sci. 94, (1983), 37-44
- Szabó D., Czakó-Nagy I., Zrínyi M., Vértes A.: Magnetic and Mössbauer Studies of Magnetite-Loaded Polyvinyl Alcohol Hydrogels, J. Colloid. Interf. Sci. 221, (2000), 166–172
- Szalontai Gábor: Mágneses magrezonancia-spektroszkópia, Egy- és kétdimenziós módszerek a kémiai szerkezetkutatásban, Metodikai útmutató, Veszprémi Egyetem NMR Laboratórium, (2003)
- Tatarunis S., Klasco M.: FerroTec — New Developments in Magnetic Fluids, Voice Coil, (2005), 1-3
- Timko M., Dzarova A., Kovac J., Skumiel A., Józefczak A., Hornowski T., Gojzewski H., Zavisova V., Koneracka M., Sprincova A., Strbak O., Kopcansky P., Tomasovicova N.: Magnetic properties and heating effect in bacterial magnetic nanoparticles, J. Magn. Magn. Mater. 321, (2009), 1521–1524
- Tombácz E., Bica D., Hajdú A., Illés E., Majzik A., Vékás L.: Surfactant double layer stabilized magnetic nanofluids for biomedical application, J. Phys. Condens. Matter. 20, (2008), 204103 (6pp)
- Tombácz E., Hajdú A., Illés E., László K., Garberoglio G., Jedlovsky P.: Water in Contact with Magnetite Nanoparticles, as Seen from Experiments and Computer Simulations, Langmuir 25 (22), (2009) 13007-13014
- Tombácz E., Illés E., Hajdú A.: A novel use of humic acids in preparation of water based magnetic fluid with high pH and salt tolerance, a possible biomedical application, In: Humic Substances – Linking Structure to Functions (Eds. F. Frimmel, G. Abbt-Braun), Karlsruhe, Germany, (2006), 69-72



- Tombácz E., Illés E., Majzik A., Hajdú A., Rideg N., Szekeres M.: Ageing in the inorganic nanoworld: example of magnetite nanoparticles in aqueous medium, *Croat. Chem. Acta* 80, (2007), 503–515
- Tombácz Etelka: Adsorption: Theory, Modeling and Analysis, ed. J. Tóth, Marcel Dekker, New York, Ch. 12. (2002)
- Tombácz Etelka: Talajreleváns határfelületi és kolloid kölcsönhatások, MTA Doktori értekezés, Szeged, (2003)
- van Ewijk G. A., Vroege G. J., Philipse A. P.: Convenient preparation methods for magnetic colloids, *J. Magn. Magn. Mater.* 201, (1999), 31-33
- Wang Y. X. J., Hussain S. M., Krestin G. P.: Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging, *Eur. Radiol.* 11, (2001), 2319-2331
- Warty V. S., Busch R. P., Virji M. A.: A kit for citrate in foodstuffs adapted for assay of serum and urine, *Clin. Chem.* 30, (1984), 1231-1233
- Weissleder R., Elizondo G., Wittenberg J., Rabito C. A., Bengel H. H., Josephson L.: Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide: Characterization of a New Class of Contrast Agents for MR Imaging, *Radiology* 175, (1999), 489-493
- Weissleder R., Stark D. D., Engelstad B. L., Bacon B. A., Compton C. C., White D. L., Jacobs P., Lewis J. : Superparamagnetic Iron Oxide: Pharmacokinetics and Toxicity, *Am. J. Roentgenol.* 152, (1989), 167–173
- Wilhelm C., Gazeau F.: Universal cell labelling with anionic magnetic particles, *Biomaterials* 29,(2008), 3161-3174
- Wooding A., Kilner M., Lambrick D. B.: Studies of the double surfactant layer stabilization of water-based magnetic fluids, *J. Colloid. Interf. Sci.* 144, (1991), 236–42
- Wu Y., Guo J., Yang W., Wang C., Fu S.: Preparation and characterization of chitosan-poly(acrylic acid) polymer magnetic microspheres, *Polymer* 47, (2006), 5287–5294
- Wust P., Hildebrandt B., Sreenivasa G., Rau B., Gellermann J., Riess H., Felix R., Schlag P. M.: Hyperthermia in combined treatment of cancer, Review, *Lancet Oncol.* 3, (2002), 487–497
- Yan G. P., Robinson L., Hogg P.: Magnetic resonance imaging contrast agents: Overview and perspectives, Review, *Radiography* 13, (2007), 5-19
- Zahn M.: Magnetic fluid and nanoparticle applications to nanotechnology, *J. Nanopart. Res.* 3, (2001), 73–78

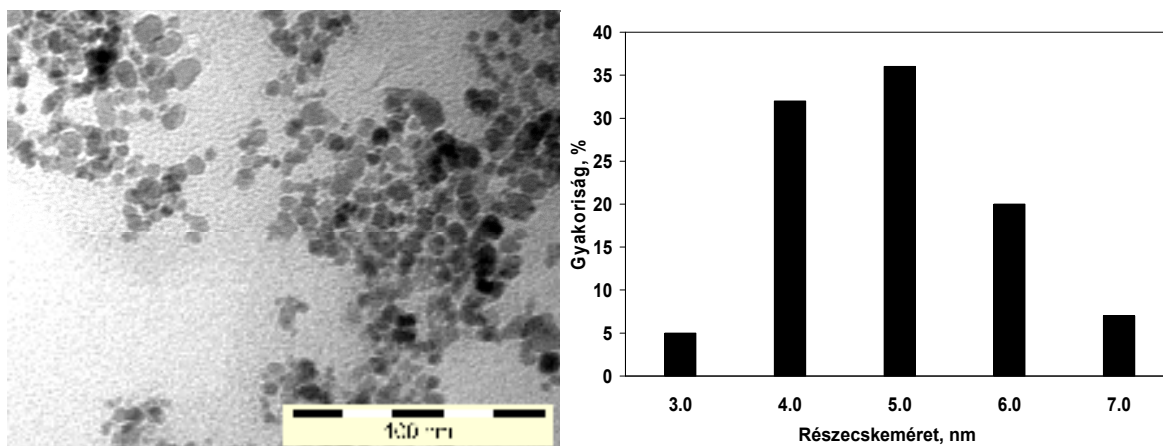
Zhang L. Y., Gu H. C., Wang X. M.: Magnetite ferrofluid with high specific absorption rate for application in hyperthermia, J. Magn. Magn. Mater. 311, (2007), 228–233

Zhang Y., Kallay N., Matijević E.: Interaction of metal hydrous oxides with chelating agents. 7. Hematite-oxalic acid and –citric acid systems, Langmuir 1, (1985), 201-206

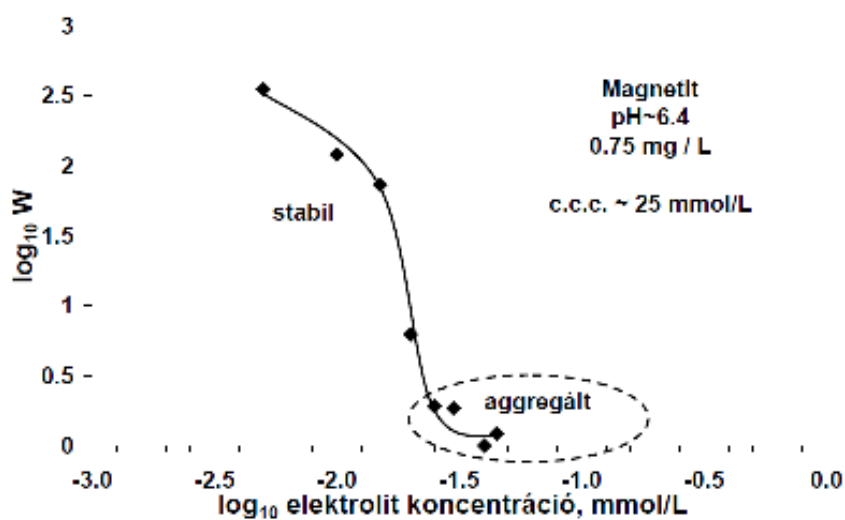
Zrínyi M.: Intelligens anyagok, Magyar Tudomány 6, (1999) 697-703

[http://science.nasa.gov/headlines/y2003/02apr\\_robotblood.htm](http://science.nasa.gov/headlines/y2003/02apr_robotblood.htm)

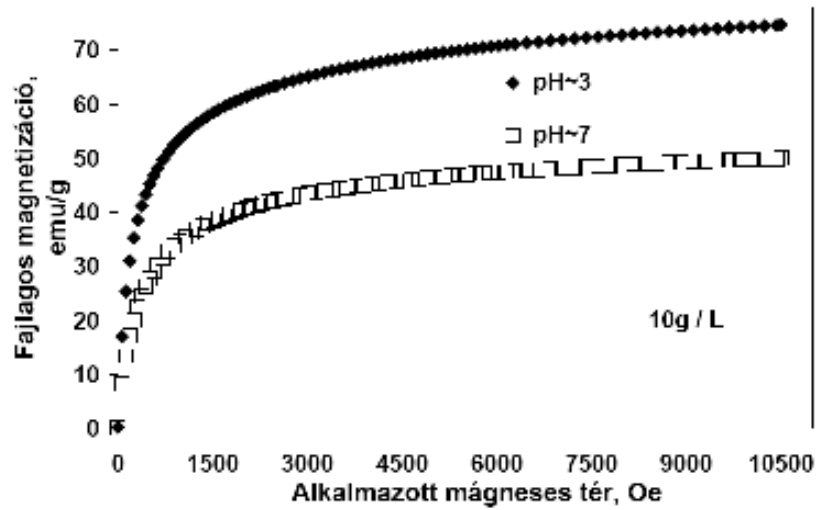
# I. Függelék



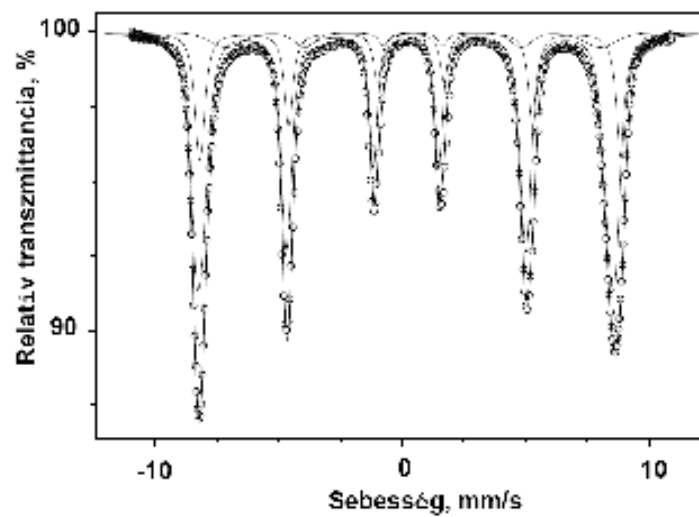
1.ábra A magnetit részecskék TEM felvétele és részecskeméret eloszlása.



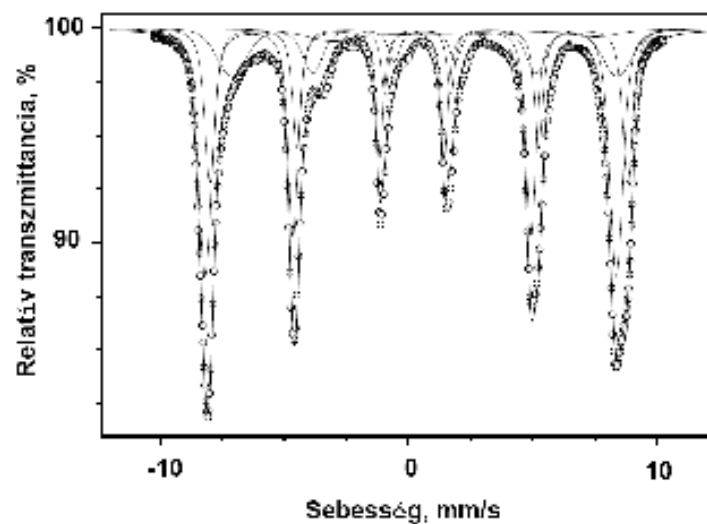
2. ábra A magnetit részecskék kolloidstabilitása: a koagulálás kinetikai mérésekből számolt stabilitási paraméter (W) változása az elektrolitkoncentráció függvényében.



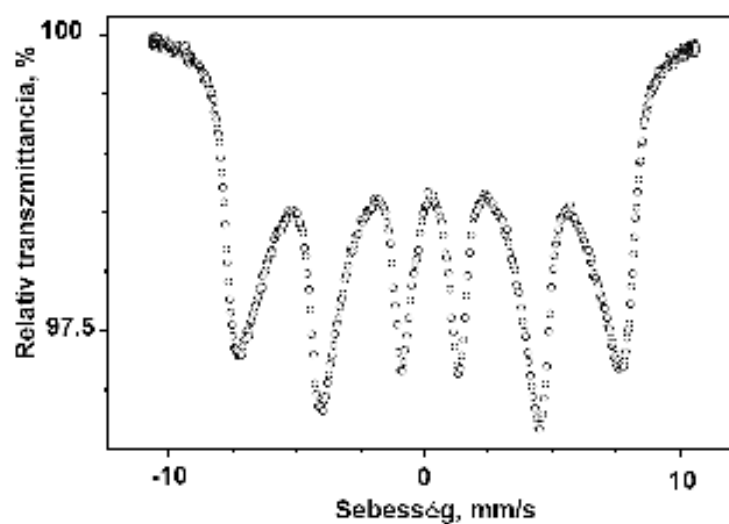
3. ábra Egy szintetizált magnetit minta magnetizációs görbéje, ugyanolyan koncentrációjú stabil (pH~3) és aggregált (pH~7) vizes szuszpenzióban, 25 °C-on mérve.



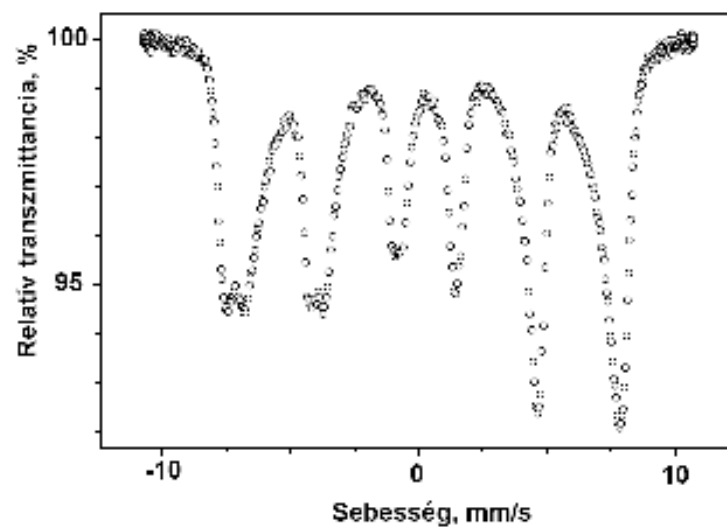
4. ábra Levegő jelenlétében szintetizált és liofilizált magnetit Mössbauer spektruma 4 K hőmérsékleten.



5. ábra  $N_2$  atmoszférában szintetizált és tárolt magnetit nanorészecskék Mössbauer spektruma 4 K hőmérsékleten.



6. ábra Levegő jelenlétében szintetizált és liofilizált magnetit Mössbauer spektruma 298 K hőmérsékleten.



7. ábra  $N_2$  atmoszférában szintetizált és tárolt magnetit nanorészecskék Mössbauer spektruma 298 K hőmérsékleten.

## II. Függelék



1. ábra Növekvő mennyiségű citromsavval (0-3 mmol/L) stabilizált magnetit nanorészecskék szuszpenziója, pH~6±0,2, 0,01 mol/L NaCl.

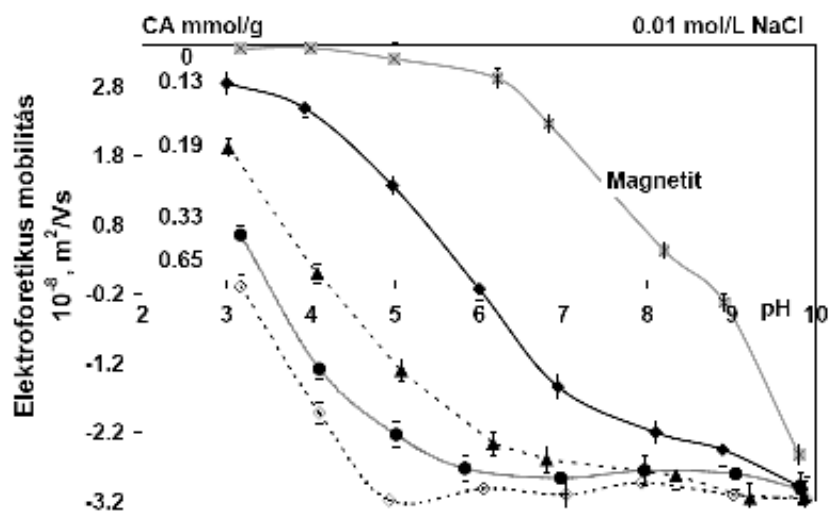


2. ábra Adszorpciós sorozat: növekvő koncentrációjú poliakrilsav a magnetit szolokban, pH~6,5, 0,01 mol/L NaCl.

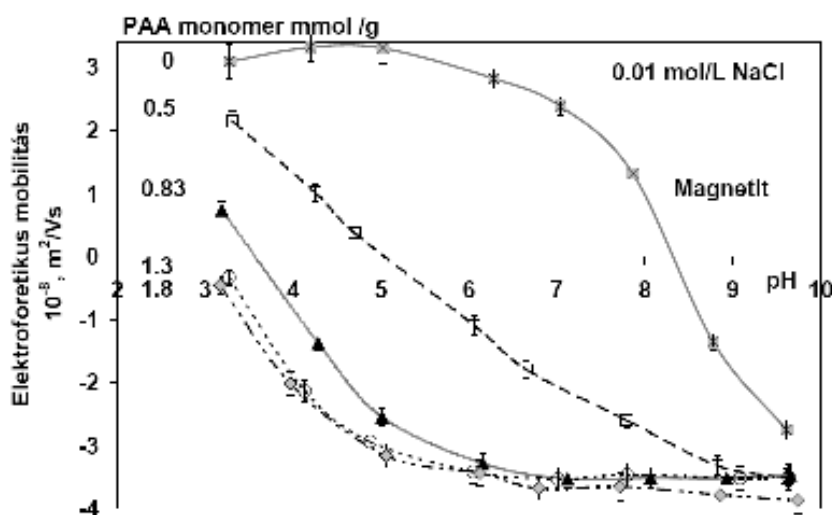


3. ábra Adszorpciós sorozat: növekvő koncentrációjú Na-oleát a magnetit szolokban, pH~6, 0,01 mol/L NaCl.

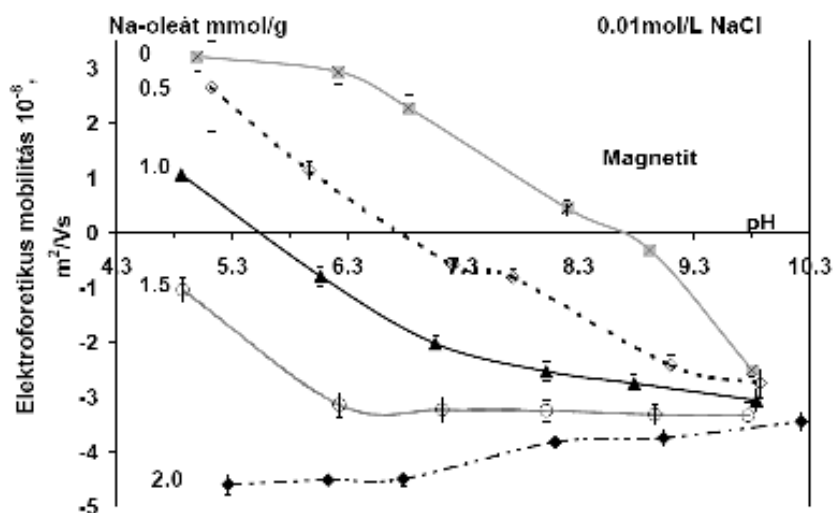




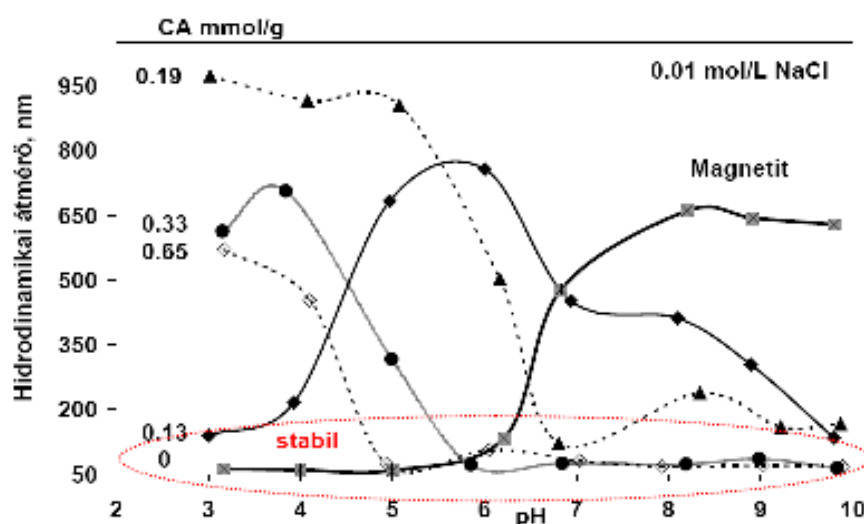
4. ábra A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának pH függése növekvő mennyiségű citromsav jelenlétében (CA mmol/g; mmol hozzáadott CA 1 g magnetitre vonatkoztatva).



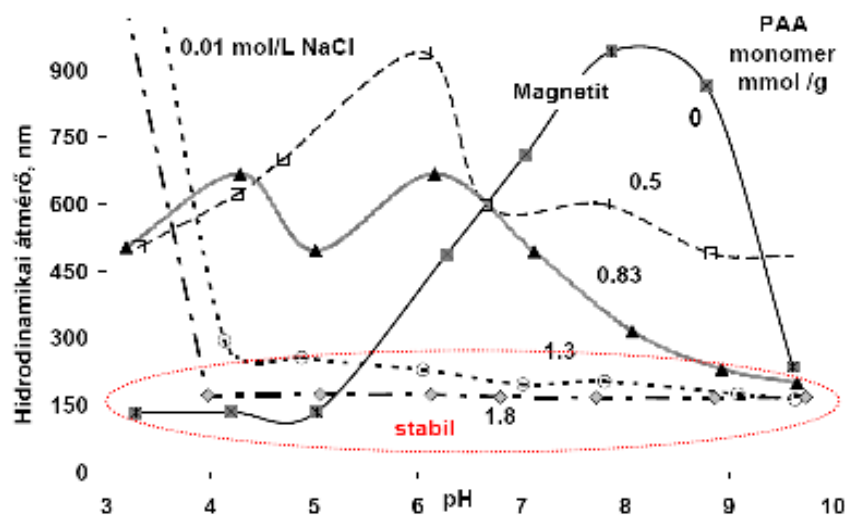
5. ábra A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának pH függése növekvő mennyiségű poliakrilsav jelenlétében (PAA monomeregység mmol/g; hozzáadott PAA monomeregység mmol 1 g magnetitre vonatkoztatva).



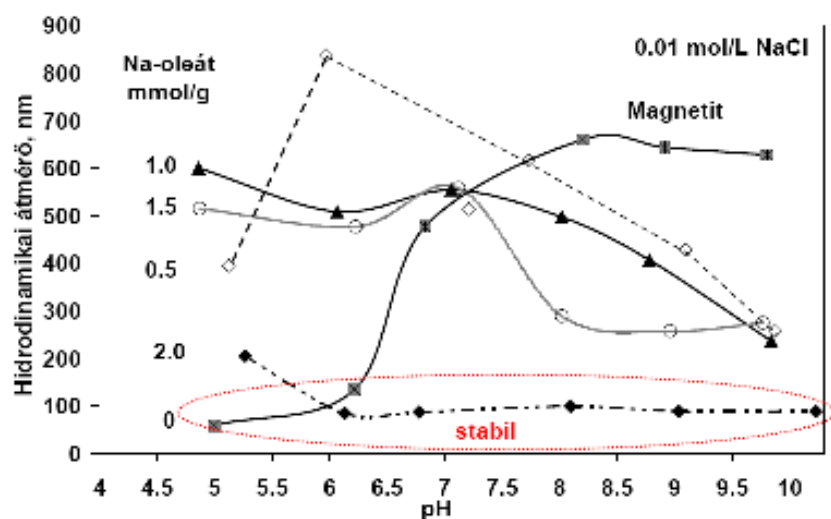
6. ábra A magnetit részecskék elektroforetikus mobilitásának pH függése növekvő mennyiségű Na-oleát jelenlétében (Na-oleát mmol/g; mmol hozzáadott NaOA 1 g magnetitre vonatkoztatva).



7. ábra A magnetit részecskék pH-függő aggregációja növekvő mennyiségű citromsav jelenlétében, 0,01 mol/L NaCl (CA mmol/g; mmol hozzáadott CA 1 g magnetitre vonatkoztatva; a jelölt stabil tartomány kivételével a mért adatok csak egy adott kinetikai állapot aggregátumaira jellemzők).



8. ábra A magnetit részecskék pH-függő aggregációja növekvő mennyiségű poliakril[sav jelenlétében, 0,01 mol/L NaCl (PAA monomeregység mmol/g; hozzáadott PAA monomeregység mmol 1 g magnetitre vonatkoztatva; a jelölt stabil tartomány kivételével a mért adatok csak egy adott kinetikai állapot aggregátumaira jellemzők).



9. ábra A magnetit részecskék pH-függő aggregációja növekvő mennyiségű Na-oleát jelenlétében, 0,01 mol/L NaCl (Na-oleát mmol/g; mmol hozzáadott NaOA 1 g magnetitre vonatkoztatva; a jelölt stabil tartomány kivételével a mért adatok csak egy adott kinetikai állapot aggregátumaira jellemzők).

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit T1, ms	CA-magnetit T1, ms	PAA-magnetit T1, ms	NaOA-magnetit T1, ms	Resovist T1, ms
0.5	1933	2043	1810	2404	1573
1	1904	1383	1361	2175	953
2.5	885.4	821	805	1490	540
5	417	491	527	1169	269.6
7.5	301	379.1	375	975.4	177.5
10	222	318.7	272.2	843.3	135

**10. táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T1 relaxációs adatai ms-ban kifejezve a koncentráció függvényében 0,47 T, 25°C.**

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit T1, ms	CA-magnetit T1, ms	PAA-magnetit T1, ms	NaOA-magnetit T1, ms	Resovist T1, ms
0.5	3040.7	3047.8	3026.3	3139.4	3049.2
1	3060.0	3048.0	3092.7	3059.8	2931.0
2.5	2894.4	2828.4	2872.5	3065.3	2579.3
5	2680.2	2556.5	2790.7	3055.3	2160.0
7.5	2312.9	2399.8	2480.5	2842.7	1854.5
10	2555.0	2103.8	2433.9	-	1644.2

**11. táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T1 relaxációs adatai ms-ban kifejezve a koncentráció függvényében 9,4 T, 25°C.**

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit T2, ms	CA-magnetit T2, ms	PAA-magnetit T2, ms	NaOA-magnetit T2, ms	Resovist T2, ms
0.5	340.8	429.1	277.5	636.0	202.3
1	330.0	178.4	155.7	311.3	182.0
2.5	89.3	89.9	78.1	106.4	83.3
5	38.1	39.1	53.0	56.3	38.2
7.5	26.2	42.0	37.6	40.7	25.7
10	19.1	38.3	27.1	32.0	18.7

**12 . táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T2 relaxációs adatai ms-ban kifejezve, a koncentráció függvényében 0,47 T, 25°C.**

Vas koncentráció, mg/L	Magnetit T2, ms	CA-magnetit T2, ms	PAA-magnetit T2, ms	NaOA-magnetit T2, ms	Resovist T2, ms
0.5	279.5	447.2	255.1	331.8	535.1
1	284.2	177.1	205.5	-	144.7
2.5	89.8	183.0	72.6	117.0	60.7
5	34.4	70.7	50.3	-	30.9
7.5	25.9	-	38.7	48.8	21.5
10	-	53.2	34.0	-	14.7

**13. táblázat A különböző módon stabilizált mágneses folyadékok T2 relaxációs adatai ms-ban kifejezve, a koncentráció függvényében 9,4 T, 25°C.**

## Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni elsősorban szüleimnek és családomnak, hogy megteremtették számomra a PhD fokozat eléréséhez szükséges családi, anyagi és szellemi háttérrel.

Köszönetemet fejezem ki **Prof. Dr. Dékány Imre** Professzor Úrnak, hogy a Kolloidkémiai Tanszéken lehetővé tette számomra a disszertációm elkészítését.

**Prof. Tombácz Etelkának** a támogatást, szakmai háttérrel és a türelmét szeretném megköszönni, mellyel a munkám során végig segítette az előrehaladásomat.

Köszönetet szeretnék mondani **Dr. Galbács Gábornak** az ICP vizsgálatok elvégzésért, mellyel segítette a disszertációm teljessé tételét.

Köszönöm **Dr. Mihály Judithnak** az ATR FTIR mérések során nyújtott segítségét.

Köszönet illeti **Dr. Szalai Istvánt** a hipertermiás mérések során nyújtott szakmai segítségért és a készülék összeállításáért, illetve tökéletesítéséért.

Köszönetemet fejezem ki **Prof. Bányai Istvánnak** az NMR mérések során nyújtott szakmai segítségért.

**Dr. Babos Magornak** és az Euromedic Diagnostic Szeged Kft.-nek az MRI készüléken végzett mérésekért és a kiértékelésben nyújtott segítségéért.

**Dr. Zupkó Istvánnak** és **Dr. Réthy Borbálának** a sejtes kísérletek és fényképek elkészítéséért.

**Prof. Michal Borkovecnek** és **Dr. Andrea Vaccaronak** a koagulálás kinetikai mérések elméleti háttérének elsajátításáért.

**Dr. Ladislau Vékás** úrnak a VSM mérésekért szeretnék köszönetet mondani.

A Mössbauer mérésekért szeretnék köszönetet mondani **Prof. Anton Lurfnek**.

A tanszéken dolgozó összes munkatársnak a munkám során nyújtott segítségüket és türelmüket köszönöm.